

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**SIÇAN İZOLE MEZENTERİK YATAĞI KÜÇÜK  
REZİSTANS ARTERLERİNDE VİSFATİN'İN  
FONKSİYONEL ETKİLERİ**

**Esra AKCABAĞ ÇIRA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya, 2015**

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı**

**SIÇAN İZOLE MEZENTERİK YATAĞI KÜÇÜK  
REZİSTANS ARTERLERİNDE VİSFATİN'İN  
FONKSİYONEL ETKİLERİ**

**Esra AKCABAĞ ÇIRA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM**

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından Desteklenmiştir. (Proje No: 2014.02.0122.002)

“Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir”

**Antalya, 2015**

## ÖZET

Adipoz doku enerji depolamanın yanı sıra pek çok hayati role sahip endokrin bir organdır. Yağ asitleri, diğer lipidler ve metabolitlerin salınımına ilave olarak, adipoz doku 600'den fazla adipokin (adipositokin) olarak adlandırılan biyoaktif faktör salgılamaktadır. Adipositokinler, adipoz doku içerisinde lokal olarak etki gösterebildikleri gibi sistemik dolaşım ile farklı organlara da ulaşabilmekte ve burada sistemik etkiler de oluşturmaktadırlar. Halen bilinen 600'den fazla adipokin immün yanıt, inflamasyon, glukoz metabolizması, insülin duyarlılığı, hipertansiyon, hücre adezyonu, vasküler büyüme ve fonksiyon, adipogenez, kemik morfogenezi, büyüme, lipid metabolizması, iştah ve doyumluğun düzenlenmesi gibi biyolojik süreçlerde rol oynamaktadır.

Yeni bir adipositokin olan visfatin, çeşitli patolojik durumlarla ilişkisi yanı sıra perivasküler adipoz doku (PVAT)'da bulunmakta ve vasküler sistemde etkiler göstermektedir. Endotel fonksiyon bozukluğu ve vasküler hasar için potansiyel bir biyomarker olabileceği ileri sürülmüştür. Vasküler gevşemenin bozulmasında direkt bir rol oynayabileceği bildirilmesine karşın küçük rezistans arterlerdeki fonksiyonel etkilerine yönelik çalışmalarda çelişkili sonuçlar alınmıştır. Bu nedenle bu çalışmada sıçan izole mezenterik rezistans arterlerinde visfatin'in fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan olası mekanizma/ lar'ın belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma 10-12 haftalık erkek Wistar sıçanlardan alınan izole mezenterik vasküler yatak küçük rezistans arter halkalarında gerçekleştirilmiştir. Visfatin inkübasyonu (1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL) mezenterik arter halkalarının noradrenaline (NA:  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamış, ancak endoteli sağlam halkaların asetilkoline (ACh:  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) gevşeme yanıtlarını anlamlı olarak azaltmıştır. Visfatin'in inhibitör etkisi endoteli zedeli halkalarda gözlenmemiştir. Visfatin'in ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerindeki inhibitör etkisi, dokuların Nampt inhibitörü FK866 (10  $\mu$ M) veya süperoksid dismutaz (SOD: 100 U/ml) ile inkübasyonu sonrasında geri dönmüştür. Sıçan mezenterik arter halkalarının sodyum nitropruside (SNP:  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) gevşeme yanıtları visfatin inkübasyonu ile anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Mezenterik PVAT visfatin düzeyleri ( $117.75 \pm 12.47$  ng/mg) plazma visfatin düzeylerinden ( $8.75 \pm 0.81$  ng/mL) anlamlı olarak yüksek bulunmuş, bu iki parametre arasında anlamlı bir pozitif korelasyon saptanmıştır.

Mevcut sonuçlar toplu olarak ele alındığında visfatin'in izole sıçan mezenterik rezistans arterlerinde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını olasılıkla NO inhibisyonu ve serbest oksijen radikalleri aracılığı ile inhibe ettiği anlaşılmaktadır. NO'in endotelyal inflamasyonu ve trombozu inhibe eden bir vazoprotektif ajan olduğu düşünüldüğünde, çalışmamızın sonuçları çeşitli patolojik durumlara bağlı visfatin düzeylerindeki lokal ve/veya sistemik artışların, en azından küçük rezistans arterler düzeyinde endotel fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkileri ile bu patolojilere katkıda bulunabileceğine işaret etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Adipokin, Visfatin, Sıçan Mezenterik Arter, Nitrik Oksid, Vazoprotektif

## ABSTRACT

Adipose tissue is an endocrine organ with many vital roles as well as energy storage. In addition to the release of fatty acids, other lipids and metabolites, it secretes more than 600 bioactive factors named as adipokine (adipocytokine). Adipocytokines can exert both local effects within the adipose tissue and systemic effects in different organs by reaching them through systemic. More than 600 adipokines, currently known, play roles in biological processes such as immune response, inflammation, glucose metabolism, insulin sensitivity, hypertension, cell adhesion, vascular growth and function, adipogenesis, bone morphogenesis, growth, lipid metabolism and regulation of appetite and satiety.

Visfatin, a new adipocytokine, is expressed in perivascular adipose tissue (PVAT) and exerts effects in vascular system in addition to its relation with various pathological conditions. It is suggested that visfatin is a potential biomarker for endothelial dysfunction and vascular damage. Although, it is reported that visfatin may play a direct role in deterioration of vascular relaxation, there are conflicting results regarding its functional effects in small resistance arteries. Therefore, the present study aimed to investigate the functional effects and the possible underlying mechanism(s) of visfatin in isolated rat mesenteric small resistance arteries.

The study was conducted in isolated rings of small resistance arteries from mesenteric vascular bed obtained from male Wistar rats aged 10-12 weeks. While visfatin incubation (1, 5, 25, 50 and 100 ng/mL) did not produce significant alterations in contractile responses of mesenteric arterial rings to noradrenaline (NA:  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M), relaxation responses to acetylcholine (ACh:  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) were significantly reduced in endothelium-intact rings. The inhibitory effect of visfatin was not observed in endothelium-denuded rings. Incubation of tissues with Namp1 inhibitor FK866 (10  $\mu$ M) or superoxide dismutase (SOD: 100 U/ml) reversed the inhibitory effects of visfatin on relaxation responses to ACh. Visfatin incubation did not cause a significant alteration in relaxation responses of rat mesenteric artery rings to sodium nitroprusside (SNP:  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M). Mesenteric PVAT visfatin levels ( $117.75 \pm 12.47$  ng/mg) were significantly higher than plasma visfatin levels ( $8.75 \pm 0.81$  ng/mL) and there was a significant positive correlation between these two parameters.

Taken together, present results suggested that visfatin inhibited the endothelium-dependent relaxation responses in isolated rat mesenteric resistance arteries probably through NO inhibition and free oxygen radicals. Given that NO is a vasoprotective agent inhibiting endothelial inflammation and thrombosis, the results of our study indicated that increments in local and/or systemic visfatin levels due to various pathological conditions may contribute, at least at the level of small resistance arteries through unfavorable effects on endothelial functions, in these pathologies.

**Keywords:** Adipokine, Visfatin, Rat Mesenteric Artery, Nitric Oxide, Vasoprotective

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim öncesinde akademik bir kariyer konusunda beni yüreklendiren ve heyecanlandıran, sahip olduğu tüm bilgi ve tecrübesini aktarmak konusunda çekinmeyen, kişisel ve akademik gelişmemde büyük katkıları olan Sayın Danışman Hocam Prof. Dr. Sadi S. ÖZDEM'e akademik kariyerime öncülük ettiği ve yardımlarını bir an bile eksik etmediği için,

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Mehmet İSBİR'e yapılan çalışmalar ve projelere öncülük ederek, kişisel gelişimimize verdiği katkı ve destekleri için,

Çok değerli çalışma arkadaşım Zeliha BAYRAM'a bu akademik kariyerde yol arkadaşı olduğu ve bilgilerini benimle paylaştığı için,

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda görev alan tüm değerli hocalarıma ve kıymetli arkadaşlarıma bana verdikleri destek için,

Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına, göstermiş oldukları yardımlar için,

Sevgili aileme bana eğitimimin her aşamasında sağladıkları imkanlar ve hayatımın her anında en yakınımda oldukları için,

Bana yaptığım çalışmalarda elinden gelen hiçbir desteği ve özveriyi esirgemeyen hayat arkadaşım, sevgili eşim Kemal ÇIRA'ya hep yanımda olduğu için tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunuyorum.

## İÇİNDEKİLER TABLOSU

<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER TABLOSU</b>	<b>vii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>xii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>xiv</b>
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Adipoz Doku	3
2.2. Adipokinler	5
2.2.1. Leptin	6
2.2.2. TNF $\alpha$	8
2.2.3. Adiponektin	8
2.2.4. Apelin	9
2.2.5. Vaspın (Viseral adipoz doku-kökenli serin proteaz inhibitörü)	10
2.2.6. BMP-7 (Kemik morfogenetik protein-7)	10
2.2.7. Nesfatin-1	11
2.2.8. DPP-4 (Dipeptidil peptidaz-4)	12
2.2.9. IL-1 $\beta$ (İnterlökin-1 Beta)	12
2.2.10. FGF-21 (Fibroblast Büyüme Faktörü-21)	13
2.2.11. Resistin	14
2.2.12. Nampt/Visfatin/PBEF	14
2.2.12.1. Visfatin'in Tarihçesi	14
2.2.12.2. Visfatin'in Yapısı	15
2.2.12.3. Visfatin'in Organ ve Doku Dağılımı	15
2.2.12.4. Visfatin Ekspresyonunun Düzenlenmesi	16

2.2.12.5.	Visfatin ve Lipid Profili	17
2.2.12.6.	Visfatin ve Obezite	18
2.2.12.7.	Çocuklarda ve Ergenlerde Visfatin	18
2.2.12.8.	Visfatin ve Böbrek Hastalığı	18
2.2.12.9.	Visfatin ve Kanser	19
2.2.12.10.	Visfatin ve Akut Akciğer Hasarı	19
2.2.12.11.	Visfatin ve Ateroskleroz	20
2.2.12.12.	Visfatin ve İnflamatuvar Hastalıklar	20
2.2.12.13.	Visfatin ve Diyabet	21
2.2.12.14.	Visfatin ve İskemik İnme	22
2.2.12.15.	Visfatin ve Polikistik Over Sendromu	22
2.2.12.16.	Visfatin ve Kardiyovasküler Hastalık	23
2.2.12.17.	Visfatin Ölçümü	25
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>		<b>26</b>
3.1.	Sıçan İzole Mezenterik Yatağı Küçük Rezistans Arterlerinin Elde Edilişi ve Deney İçin Hazırlanışı	26
3.2.	Tel Myografta İn Vitro Deneyler	28
3.3.	Mezenterik Perivasküler Yağ Dokusu ve Plazma Visfatin Düzeyleri Ölçümleri	29
3.4.	Deneylerde Kullanılan İlaçlar	30
3.5.	İstatistiksel Analiz	30
<b>BULGULAR</b>		<b>31</b>
<b>TARTIŞMA</b>		<b>39</b>
<b>SONUÇLAR</b>		<b>44</b>
<b>KAYNAKLAR</b>		<b>46</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>		<b>68</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ACh</b>	: Asetilkolin
<b>BMI</b>	: Vücut Kitle İndeksi
<b>BMP-7</b>	: Kemik Morfogenetik Protein-7
<b>cGMP</b>	: Siklik Guanozin Monofosfat
<b>CD</b>	: Yüzey Farklılaşma Antijenleri
<b>CRP</b>	: C-Reaktif Protein
<b>DPP-4</b>	: Dipeptidil Peptidaz-4
<b>ELISA</b>	: Enzim Bağlı İmmünosorbent Yöntemi
<b>eNOS</b>	: Endotelial Nitrik Oksid Sentaz
<b>ERK ½</b>	: Ekstrasellüler Sinyalle Düzenlenen Kinaz
<b>FGF</b>	: Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>FMD</b>	: Akım Aracılı Gevşeme (Flow-Mediated Dilation)
<b>HDL</b>	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
<b>GABA</b>	: Gama Aminobütirik Asid
<b>GLP-1</b>	: Glukagon Benzeri Peptid-1
<b>GLUT-4</b>	: Glukoz Transporter Tip-4
<b>ICAM-1</b>	: İntersellüler Hücre Adezyon Molekülü-1
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>IL-1β</b>	: İnterlökin-1 Beta
<b>IL-1Ra</b>	: İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti
<b>KAH</b>	: Koroner Arter Hastalığı



<b>KCI</b>	: Potasyum Klorür
<b>L-NAME</b>	: N $\omega$ - Nitro-L-Arginin Metilester
<b>LDL</b>	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
<b>MCP-1</b>	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
<b>MIN</b>	: Mouse İnsülinoma
<b>MMP</b>	: Matriks Metalloproteinaz
<b>NA</b>	: Noradrenalin
<b>NAD</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>Nampt</b>	: Nikotinamid fosforiboziltransferaz
<b>NMN</b>	: Nikotinamid Mononükleotid
<b>NO</b>	: Nitrik Oksid
<b>NO</b>	: Nitrik Oksid Sentaz
<b>NPY</b>	: Nöropeptid Y
<b>PBEF</b>	: Pre-B-Hücre Koloni-Artırıcı Faktör
<b>PCOS</b>	: Polikistik Over Sendrom
<b>PHE</b>	: Fenilefrin
<b>PI3K</b>	: Fosfoinositol-3 Kinaz
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	: Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gama
<b>PSS</b>	: Fizyolojik Tuz Solüsyonu
<b>PVAT</b>	: Perivasküler Adipoz Doku
<b>RA</b>	: Romatoid Artrit
<b>SIRT1</b>	: Sirtuin1
<b>SNP</b>	: Sodyum Nitroprussid
<b>SOD</b>	: Süperoksid Dismutaz

<b>T2DM</b>	: Tip 2 Diyabetes Mellitus
<b>TSH</b>	: Tiroid Stimüle Edici Hormon
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
<b>UCP1</b>	: Eşlenmemiş Protein1 (Uncoupling Protein1)
<b>VCAM-1</b>	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
<b>VILI</b>	: Ventilatör İndüksiyonlu Akciğer Hasarı
<b>VSMC</b>	: Vasküler Düz Kas Hücre
<b>VLDL</b>	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Damar tabaka yapısı	4
2.2. Adipoz dokudan salınan adipokinler	6
2.3. Nikotinamid fosforiboziltransferaz (Nampt)'in enzimatik aktivitesi	15
2.4. Visfatin ve etkileri	17
2.5. Kardiyovasküler sistem üzerinde visfatin/Nampt'in direkt etkileri	24
3.1. Süperior mezenterik arterden ince barsak duvarına kadar uzanan mezenterik vasküler yatak	27
3.2. Tel myograf sistemi	27
3.3. Yağ dokusu homojenati	30
4.1. Endoteli sağlam sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi	31
4.2. Endoteli zedeli (E-) sıçan mezenterik arter halkalarının kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) uygulanan ACh'ya yanıtı ve farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi	32
4.3. Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi	33
4.4. Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) uygulanan SNP ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi	33

- 4.5.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde visfatin (25 ng/mL, 30 dk.) ve FK866 (10  $\mu$ M) + visfatin (25 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonunun etkisi **35**
- 4.6.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde visfatin (50 ng/mL, 30 dk.) ve FK866 (10  $\mu$ M) + visfatin (50 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonunun etkisi **35**
- 4.7.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde visfatin (100 ng/mL, 30 dk.) ve FK866 (10  $\mu$ M) + visfatin (100 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonunun etkisi **36**
- 4.8.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde L-NAME ( $10^{-4}$  M, 20 dk.), İNDO ( $10^{-5}$  M, 20 dk.), L-NAME + İNDO ( sırasıyla  $10^{-4}$  M,  $10^{-5}$  M; 20 dk.), L-NAME + İNDO + Visfatin (sırasıyla  $10^{-4}$  M,  $10^{-5}$  M, 100 ng/mL; 20 dk.) inkübasyonlarının etkisi **37**
- 4.9.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı iki konsantrasyonda (15 ng/mL, 30 dk. ve 35 ng/mL, 30 dk.) uygulanan visfatin, SOD (100 U/ml) + visfatin (15 ng/mL, 30 dk.) ve SOD (100 U/ml) + visfatin (35 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonlarının etkisi **38**
- 4.10.** Sıçanlardan alınan plazma (n=19) ve mezenterik perivasküler yağ dokusunda (n=19) visfatin düzeyleri **39**
- 4.11.** Sıçanlarda plazma ve mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeyleri arasındaki ilişki **40**

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Çizelge

### Sayfa

- 4.1. Fenilefrin ile ön-kasılma oluşturulan sıçan mezenterik rezistans arter halkalarında farklı (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) konsantrasyonlarda visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi (kontrol) ve sonrasında asetilkolin (ACh) ve sodyum nitroprusid (SNP) için Emax (%) ve pD2 değerleri **34**

## GİRİŞ VE AMAÇ

Adipoz doku aktif bir endokrin organ olarak rol oynamakta ve adipositokinler olarak adlandırılan çok sayıda biyoaktif faktör üretmektedir. Adipositokinler hem adipoz doku içerisinde lokal olarak etki gösterebilmekte hem de sistemik dolaşım ile farklı organlara da ulaşarak besin alımı-vücut ağırlığının düzenlenmesi, inflamasyon, üreme, insülin duyarlılığı, immünite, ve vasküler olayların düzenlenmesinde etkiler oluşturmaktadırlar (1; 2). Adipositokinlerin dengesiz bir şekilde artmasının insülin direnci, adipoz doku inflamasyonu, kronik sistemik inflamasyon ve endotel fonksiyon bozukluklarını da etkileyebileceği, ayrıca bu durumun obezite ve Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM) gibi metabolik bozukluklarda da rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (3). Kardiyovasküler komplikasyonlarla ilişkili metabolik hastalıkların gelişiminde, adipositokinlerin oynadığı roller son zamanlarda merak uyandıran bir araştırma konusu durumuna gelmiştir.

Pre-B-hücre koloni artırıcı faktör (PBEF) ve nikotinamid fosforiboziltransferaz (Nampt) olarak da bilinen visfatin, yeni bir adipoz doku kökenli sitokindir (adipositokin) (4; 5). Obezite, T2DM ve metabolik sendrom gibi değişik klinik durumlarda dolaşımdaki visfatin düzeylerinin yükseldiği (6; 7) bildirilmesine karşın, bu konudaki çalışmaların sonuçları arasında genel bir tutarsızlık söz konusudur; bazı çalışmalarda söz konusu klinik durumlarda visfatin düzeylerinin sağlıklı gönüllülerden farklı olmadığı ya da daha düşük olduğu gösterilmiştir (8). Benzer şekilde subkutan yağ birikimi olan kişilere göre viseral yağ birikimi olan obez insanlarda, plazma visfatin düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiş (6) ancak Berndt ve arkadaşlarının (9) çalışmasında visfatin mRNA ekspresyon düzeyleri açısından subkutan yağ birikimi ile viseral yağ birikimi olanlar arasında fark olmadığı saptanmıştır. Diğer taraftan, visfatin monosit/makrofajları aktive ederek direkt olarak vasküler hücrelerle etkileşen çok geniş bir hücre serisi tarafından salındığı için (10), sistemik dolaşımdaki visfatin'in yanı sıra, lokal olarak sentezlenen visfatin'in de vasküler fonksiyonların düzenlenmesinde parakrin bir etki oluşturabileceği düşünülebilir. Nitekim bu görüş ile uyumlu şekilde sıçan aortunun PVAT'da üretilen visfatin'in, aynı dokudan elde edilen vasküler düz kas hücre kültürlerinde, hücre proliferasyonunu stimüle ettiği gösterilmiştir (11). Ayrıca koroner arter hastalığı (KAH) olan kişilerin plak ruptur bölgelerinde visfatin ekspresyonunun arttığı ve visfatin'in potansiyel olarak plak destabilizasyonunda rol oynayabileceği bildirilmiştir (12). Tüm bu bulgular visfatin'in lokal PVAT ve/veya sistemik dolaşımdaki düzeylerinin değişiminin belirli vasküler hastalıklar açısından oldukça önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Deney hayvanları ve insanlarda yapılan çalışmalarda visfatin'in aort ve koroner arter gibi damarların PVAT'ta bulunduğu (11; 13) ve vasküler sistemde çeşitli fonksiyonlar gösterdiği saptanmıştır. Visfatin, ekstrasellüler sinyalle düzenlenen kinaz (ERK ½) ve p38 sinyalizasyon yolları aracılığı ile vasküler düz kas hücre büyümesini (11), fosfoinositol 3 kinaz/Akt (PI3K/Akt) ve ERK ½ aktivasyonu ile vasküler endotelial büyüme faktörü ve matriks metalloproteinazları artırarak endotelial anjiogenezi (14) stimüle eder. Nükleer faktör kappa-B-bağımlı mekanizmalar aracılığı ile intrasellüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi adhezyon moleküllerini indükleyerek vasküler endotelial inflamasyona neden olabilir (15). Visfatin aynı zamanda direkt olarak da vasküler kontraktileti etkileyebilmekte ancak, visfatin'in vasküler tonusun düzenlenmesi üzerine direkt etkilerini gösteren çalışma sayısının kısıtlı olması ve bu çalışmalardan elde edilen bulguların da çelişkili olması bir engel oluşturmaktadır. Visfatin'in *in vitro* çalışmalarda insan umbilikal veni ve koroner endotel hücrelerinde endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS) ekspresyonu ve aktivitesini stimüle ederek NO üretiminde ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunda artmaya neden olduğu bildirilmiştir (16). Aynı şekilde, visfatin'in izole sıçan aortu ve mezenterik arterinde eNOS aktivasyonu ile gevşetici etki oluşturduğu bildirilmiştir (17). Bu bulgularla ters olarak, T2DM (18) ve kronik böbrek yetmezliği (19) olan hastalarda brakial arterin akım aracılı gevşemesi (flow-mediated dilation; FMD) ile plazma visfatin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiş, renal transplantasyonu takiben dolaşımdaki visfatin düzeylerindeki azalma ile birlikte FMD ile değerlendirilen endotel fonksiyon bozukluğunda düzelme olduğu saptanmıştır (20). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ise visfatin'in insan ve sıçan mezenterik mikrodamarlarında Nmp1 aktivitesi aracılığıyla endotelial bağımlı gevşemeleri bozduğu gösterilmiştir (21). Bu çelişkili sonuçlar, visfatin'in vasküler dokuda fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların tam olarak belirlenebilmesi için mevcut çalışma sayısının artırılması gerektiğini göstermektedir.

Bu nedenle bu çalışmada sıçan izole mezenterik yatağı küçük rezistans arterlerinde visfatin'in fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan olası mekanizma/lar'ın belirlenmesi ve visfatin'in (22) küçük rezistans arterlerdeki etkilerine yönelik çelişkili sonuçlara açıklık getirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında plazma ve izole küçük rezistans arter PVAT visfatin konsantrasyonları ölçülmüş ve bu konsantrasyonlar *in vitro* izole tel miyografta visfatin'in etkinlik gösterdiği konsantrasyon aralıkları ile karşılaştırılmıştır. Bu şekilde hem visfatin'in sistemik ve lokal konsantrasyonları arasındaki olası ilişkiler hem de fizyolojik ve patolojik durumlarda oluşabilecek sistemik ve lokal visfatin konsantrasyonlarının vasküler rezistans üzerindeki etkilerine yönelik ilk veriler elde edilerek bu alanda yapılacak ileri çalışmalara zemin hazırlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Adipoz Doku

Adipoz doku; adiposit prekürsörleri, fibroblastlar, immün hücreler ve çeşitli hücre tiplerini içeren, bağ dokusunun özel bir tipidir ve bu bağ dokusuna gevşek şekilde bağlanan adiposit olarak adlandırılan hücrelerden meydana gelmektedir (23). Adipositler, yaşamın ilk iki yılında preadipositlerden oluşmaktadır, büyüklük ve sayı olarak en çok bu yıllarda değişim göstermektedir (24). Ergenliğe kadar adiposit sayısı çoğalarak artmaya devam etmektedir. Adipositlerin çapı 20 – 200 µm arasındadır. Adipositler çap olarak 20 kata kadar genişleyebilir, hacim olarak 1000 kata kadar artış gösterebilir (24; 25). Adipositlerin yanı sıra adipoz doku, fibroblast, lökosit, makrofaj ve preadiposit gibi bazı yapısal hücreler de içerebilir.

Adipositlere hormonlar ve sitokinler aracılığı ile gelen endokrin, parakrin ve otokrin sinyaller, adiposit membranında ve sitoplazmasında çeşitli hormon ve sitokinlere ait reseptörler aracılığı ile iletilerek çeşitli fonksiyonlarda rol oynarlar (24). Adiposit membranında bulunan reseptörler; hormon sitokin reseptörler (leptin, insülin, tiroid stimüle edici hormon (TSH), anjiotensin II gibi), adrenoseptörler ( $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 reseptörler), lipoprotein reseptörler (çok düşük yoğunluklu lipoprotein: VLDL, düşük yoğunluklu lipoprotein: LDL, yüksek yoğunluklu lipoprotein: HDL reseptörleri) ve sitoplazmada bulunan nükleer reseptörler şeklinde sınıflandırılabilir (24).

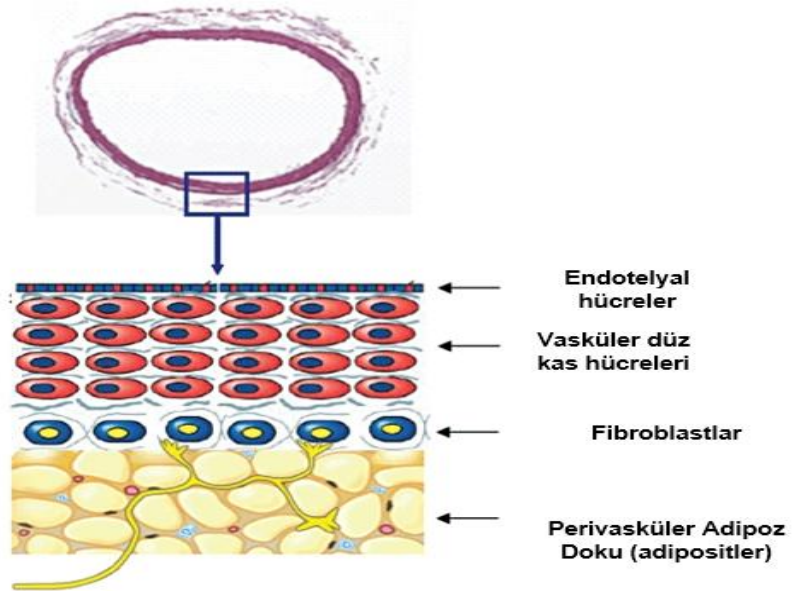
Adipoz doku enerji depolamanın yanı sıra pek çok hayati role sahip endokrin bir organdır (26). Yağ asitleri, diğer lipidler ve metabolitlerin salınımına ilave olarak, yağ dokusu 600'den fazla biyoaktif faktör (adipokinler) salgılamaktadır (27). Adipositlerden ve adipositler arasında bulunan bağ dokusu hücrelerinden salgılanan adipokinlerin otokrin, parakrin ve endokrin etkileri olduğu gösterilmiştir (28). Adipoz doku, adipokinleri salgılayarak glukoz metabolizmasına katkıda bulunmaktadır (6). Adipoz dokunun sadece enerji kaynağı olmayıp birçok sitokin ve yağ dokusu kaynaklı peptidleri salgılama yeteneği olan aktif bir organ olması; yeni metabolik belirteçlerin varlığını araştırmak için çalışmalara kaynak oluşturmaktadır (29).

Adipoz doku vücuttaki en büyük enerji kaynağıdır ve bu enerji, açlıkta ve ihtiyaç duyulduğunda hızla dolaşıma yağ asitleri şeklinde geçebilecek trigliserid halinde depolanmıştır. Adipositlerden bu yağ asitleri ve salgılanan hormon ve sitokinlerin dolaşıma geçişi hormonal sinyaller ile kontrol edilir. İnsülin, adrenalin, noradrenalin ve kortizol gibi maddeler adipositlere etki ederek adiposit fonksiyonlarını düzenler (30-32).



Adipoz doku, hücrelerinin içerdiği lipid damlacıklarına göre uniloküler (beyaz) ve multiloküler (kahverengi) yağ dokusu olarak sınıflandırılır. Bu dokular morfolojik yapıları, anatomik yerleşimleri, fonksiyonları ve düzenlenmeleri açısından çeşitli farklılıklar gösterirler. Organizmanın temel enerji deposu beyaz yağ dokusudur. Kahverengi yağ dokusu özellikle kış uykusuna yatan canlılarda vücut sıcaklığının düzenlenmesinde rol oynar. Pek çok memelide kahverengi yağ dokusu gebelik sırasında ve perinatal yaşamda gelişir. Kahverengi yağ doku hücreleri sitoplazmalarında çok sayıda mitokondri ve bir mitokondriyal protein olan eşlenmemiş protein1'i (Uncoupling Protein1; UCP1) içermeleri, yetişkinlerde çok az miktarlarda bulunmaları ve ısı düzenlenmesinde (termoregülasyon) görev almaları ile beyaz yağ dokusundan ayrılırlar (33; 34). Beyaz yağ dokusu, yağ kütlesi içerisinde en fazla bulunan yağ dokusu tipidir ve aşırı obezite durumunda vücut ağırlığının yarısından fazlasını oluşturabilir. Kahverengi yağ dokusuna oranla daha az damarlanma ve sinir dokusu içerir. Beyaz yağ dokusu, visceral yağ (karın boşluğunda iç organlar etrafında yerleşmiş olan yağ; omental yağ) ve subkutan (deri altı) yağ olmak üzere iki kısımda incelenir. Beyaz yağ dokusunun enerji dengesindeki önemi iyi bilinmekte ve birçok araştırma bu dokunun metabolizması ile ilgilenmektedir (35).

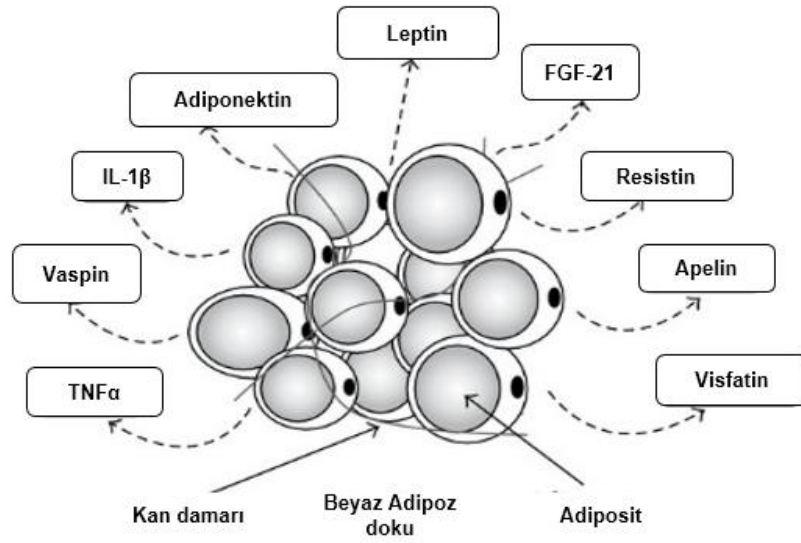
Mezenterik depolar (abdominal aort ve mezenter arterler) çoğunlukla beyaz adipoz doku içermektedirler. Sıçan aort ve mezenterik arterlerinin etrafı PVAT ile çevrelenmiştir (36) (Şekil 2.1).



**Şekil 2. 1.** Damar tabaka yapısı. Bu şekil, (36) nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

## 2.2. Adipokinler

Adipoz dokudan salınan moleküllere genel olarak adipokinler ya da adipositokinler adı verilmektedir. Hem yeni hem de var olan moleküllerin adipoz doku ya da adipositlerden salındığının gösterilmesi ile adipokinler sınıfı her yıl daha da genişlemektedir (37) (Şekil 2.2). Adipokinlerin çoğu hormon benzeri özellikler gösteren (bazıları sitokin olarak bilinen) peptid/protein yapıda moleküllerdir (38). Halen bilinen 600'den fazla adipokin (27), immün yanıt (adipsin, serum amiloid A3: SAA3, interleokin-17D: IL-17D, koloni stimüle edici faktörler: CSFs), inflamasyon (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, C reaktif protein: CRP, monosit kemoatraktan protein-1: MCP-1, osteopontin, progranulin, chemerin), glukoz metabolizması (leptin, adiponektin, dipeptidil peptidaz-4: DPP-4, resistin, vaspin), insülin duyarlılığı (leptin, adiponektin, chemerin), hipertansiyon (anjiyotensinojen), hücre adezyonu (fenilalanin amonyak liyaz-1: PAI-1), vasküler büyüme ve fonksiyon (vasküler endotelial büyüme faktörü: VEGF), adipogenez ve kemik morfogenez (kemik morfogenetik protein-7: BMP-7), büyüme (insülin benzeri büyüme faktörü 1: IGF-1, transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ : TGF- $\beta$ , fibronektin), lipid metabolizması (cluster of differentiation: CD36), iştah ve doyumluğun düzenlenmesi (leptin, vaspin) ve çeşitli diğer biyolojik süreçlerde rol oynamaktadır (39). Adipokinlerin, iştah ve doyumluk, yağ dağılımı, insülin duyarlılığı ve insülin sekresyonu, enerji tüketimi, inflamasyon, kan basıncı, hemostaz ve endotelial fonksiyonların düzenlenmesinde önemli roller oynadıkları bilinmektedir (40). Adipoz doku düzeyinde adipokinler, adipogenez, adipoz doku içine immün hücre migrasyonu, adiposit metabolizması ve fonksiyonlarının modülasyonuna katkıda bulunmaktadırlar (39). Tüm vücut düzeyinde ise adipokinler, beyin, karaciğer, kas, damar, kalp ve pankreatik  $\beta$  hücrelerini içeren hedef organlar ve dokularda farklı biyolojik süreçleri modüle etmekte ve düzenlemektedirler (41). Adipokinler, obezite ve T2DM (leptin, adiponektin), hipertansiyon (anjiyotensinojen), endotel fonksiyonu (omentin, apelin), hemostaz (fibrinojen) ve kronik inflamasyon (tümör nekroz faktör-  $\alpha$ : TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , MCP-1, progranulin, chemerin) arasındaki ilişkiyi temsil edebilecekleri için, hem biyobelirteç hem de terapötik bileşikler olarak geliştirilme açısından büyük bir potansiyele sahiptirler (40; 42). Adipokinler, bireysel tedavide başarıyı ve hastalığın ilerlemesini öngörme, tedavi ve yaşam tarzının klinik yanıtlarını izleme, yanıt alınamayan insalarda yapılabilecek müdahaleleri belirleme ya da tedavi uyumunu izleme alanlarında kullanılma potansiyeline de sahiptirler (40). Ancak, halen çeşitli adipokin belirteçlerin validasyonu oldukça zordur (42).



**Şekil 2. 2.** Adipoz dokudan salınan adipokinler. Bu şekil, (37) nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

Yağ doku kaynaklı faktörler, damar duvarlarında endotelial hücreler, arteriyel düz kas hücreleri ve makrofajların fonksiyonlarını etkilemek suretiyle damar duvar homeostazını etkileyebilmektedirler (43). Yağ dokusundan kaynaklanan adipokinlerin obezitenin komplikasyonları olan hiperlipidemi, diyabet, hipertansiyon, ateroskleroz ve kalp yetmezliği gibi hastalıkların patogeneğinde rol oynadıkları bilinmektedir (44). Adipokinlerin aynı zamanda aterosklerotik plaklarda da bulunması endokrin etkilerine ilave olarak aterosklerotik lezyonlarda lokal etkilerinin de olduğunu düşündürmektedir (43).

### 2.2.1. Leptin

İlk adipokin olan leptin 1994 yılında ob geninden üretilen bir protein olarak keşfedilmiştir (45). Leptin ismi yunanca “leptos” (ince) kelimesinden türetilmiştir. İnsandaki leptin geni 7. kromozomun uzun kolunun 3.1 bölgesinde bulunmaktadır ve DNA’sında 15.000’den fazla baz çifti içermektedir (46). Leptin 167 amino asit içeren (45), 16 kDa ağırlığında bir proteindir (47). Leptinin keşfi, ob/ob fare modelinin özellikle obez fenotipinin altında yatan mekanizmaların belirlenmesinde rol oynamıştır, ob genindeki bir mutasyon leptin eksikliğine neden olmaktadır (45).

Leptin adipositlerden salgılanmakta ve tokluk, açlık, besin alımı, aktivite ve enerji tüketimi, fertilité, aterogenez ve büyümenin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (48). Leptin üretiminin ana kaynağı subkutan yağdır (49). Leptinin, başlangıçta yalnızca yağ dokusunda sentezlenip salgılandığı düşünülürken, yakın zamanlarda plasenta, mide mukozası ve karaciğer hücrelerinde de sentezlendiği belirlenmiştir (50). Leptin ekspresyonu ve sekresyonu çeşitli faktörler tarafından

düzenlenmektedir; Örneğin, insülin, glukokortikoidler, TNF $\alpha$  ve östrojenler leptini artırırken, androjenler ve serbest yağ asitleri azaltmaktadır (51).

Leptin reseptörleri, sitokin reseptör sınıf I süperfamilyasının üyeleridir ve hem santral sinir sisteminde hem de periferde bulunmaktadır (52). Leptine duyarlı nöronlar çeşitli hipotalamik bölgelerde (53), karaciğer, böbrek, akciğer, pankreas gibi farklı organlarda (54) ve adipoz dokuda bulunmaktadır (55).

Leptinin temel biyolojik etkisi, santral sinir sistemi etkisi aracılığıyla adipoz doku büyümesini kontrol etmektir (56). Genişleyen adipositlerden salınan leptin, reseptörleri aracılığıyla iştahı azaltmak ve enerji tüketimini artırmak için GABA'erjik ( $\gamma$ -aminobütirik asid) nöronlarda etki göstermektedir (57). Hipotalamusta, leptin anoreksijenik peptidlerin sentezini artırırken, oreksijenik peptid sentezini baskılamakta, böylece genel olarak iştahı azaltmaktadır (48).

Leptinin diğer endokrin fonksiyonları arasında immün fonksiyonun düzenlenmesi, hematopoez, anjiyogenez ve kemik gelişimi yer almaktadır. Vücut yağ kütlesi ile orantılı olan leptin düzeyleri açlık durumunda hızla azalabilmekte, inflamatuvar mediyatörler tarafından ise artırılabilir. Açlık durumunda immün fonksiyonların baskılandığı bilinmektedir. Düşük vücut ağırlığına sahip insanlarda leptin düzeylerinde azalma yanı sıra hücre-aracılı immünitede bozulma söz konusudur. Farelere leptin uygulanmasının akut açlığa bağlı immünsupresif etkileri geri döndürdüğü gösterilmiştir (58). Leptin ayrıca hematopoetik hücre farklılaşmasını ve proliferasyonunu uyarmakta, immün hücreler tarafından sitokin üretimini değiştirmekte, endotelial hücre büyümesini ve anjiyogenezini uyarmakta ve yara iyileşmesini hızlandırmaktadır (51).

Leptin vücut ağırlığının önemli bir negatif düzenleyicisi olduğundan, obezite tedavisinde yeri olabileceği düşünülmüştür. Obez bireylerde, serum leptin konsantrasyonları artmakla birlikte, besin alımında azalma ya da hiperglisemide düzelme olmamıştır (48). Dahası, leptinin ekzojen uygulanması obez hastalarda vücut ağırlığını ve iştahı anlamlı olarak etkilememekte, bu bulgu ise santral leptin rezistansına işaret etmektedir (59). Leptin, obez konjenital leptin eksikliği olan farelerde (60) ve insanlarda (61) kilo kaybı oluşturmaktadır. Diğer taraftan diyetle oluşturulan obez kemirgen modellerinde (62) ya da obez insanlarda (63), kilo kaybı etkinliği çok azdır. Doğal leptinin yüksek dozları veya farmakokinetik olarak daha etkili analoglarıyla yapılan tedaviler de, kilo kaybını artırmamakta ve daha fazla advers olaylara neden olmaktadır (64).

Rekombinant leptin, şu an sadece konjenital leptin eksikliği olan hastalarda kullanım için mevcuttur (65). İnsan leptin hormonunun bir analogu olan metreleptin kısa bir süre önce Japonya'da lipodistrofinin tedavisi için onaylanmıştır, ancak henüz onay için ABD ve Avrupa Düzenleyici Kurumlar'ının kararını beklemektedir (66).

### 2.2.2. TNF $\alpha$

TNF $\alpha$  inflamasyon, apoptoz ve hücre sağ kalımının yanı sıra insülin direnci indüksiyonunda da rol oynayan multifonksiyonel bir sitokin olarak bilinmektedir (67). TNF $\alpha$ , obez hayvanların ve insanların adipoz dokusunda oldukça yüksek oranda bulunmaktadır (68). Obez fa/fa sıçanlarda TNF $\alpha$ 'nın nötralizasyonu insüline yanıt olarak periferik glukozda anlamlı bir artmaya neden olmuştur (69). Farelerde TNF $\alpha$  geninin spesifik olarak zedelenmesi hem diyetle indüklenen hem de monogenetik obezite modellerde insülin duyarlılığında anlamlı bir düzelmeye neden olmaktadır (70). Bu veriler TNF $\alpha$  etkisinin bloke edilmesinin insülin duyarlılığını ve insülin duyarlılığı ile ilişkili özellikleri düzeltebileceği hipotezini desteklemektedir (71).

Bazı kemirgen çalışmalarında, TNF $\alpha$  antikollarının uygulanması, inflamatuvar aktivitenin baskılanması, yağlı karaciğer hastalıklarının düzelmesi (72) ve beslenme ile oluşturulan obezite ve insülin direncine karşı koruma ile sonuçlanmaktadır (73). Ancak, obez Zucker sıçanlarda, anti-TNF $\alpha$  tedavisinin insülin duyarlılığı ya da lipid profili üzerine etkisi olmamıştır (74). Bazı klinik çalışmalarda, anti-TNF $\alpha$  antikoru infliximab (75) veya etanercept (76) ile uzun süreli tedavi sırasında insülin dirençli kişilerde insülin duyarlılığı ya da glukoz homeostazında kısmi bir düzelmeye neden olmaktadır. Bu raporların aksine, başka çalışmalarda infliximab ya da etanercept gibi anti-TNF $\alpha$  antikolarıyla tedavi, insanlarda insülin duyarlılığı ve obezitede değişiklikler oluşturmamıştır (77). Ancak yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sağlıklı ancak obez insülin dirençli gönüllülerde, infliximab ile kronik TNF $\alpha$  nötralizasyonu inflamatuvar durumda düzelmeye neden olurken insülin direncini ya da endotel fonksiyonlarını düzeltmemiştir (77). İnfliximab temel olarak vasküler kompartmanda daha çok dağıldığı için, infliximab'ın iskelet kası ve adipoz doku gibi periferik dokularda insülin direnci üzerine etkinliğinin düşük olabileceği bildirilmiştir (78). Morbid obezlerde insülin direnci üzerine anti-TNF $\alpha$  antikollarının etkisinin olmaması, TNF $\alpha$ 'nın parakrin bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir (79).

### 2.2.3. Adiponektin

Adiponektin 1995 yılında keşfedilmiştir (80). Yağ dokusu tarafından sentezlenen adiponektin, 30 kDa büyüklüğünde, kollojen benzeri bir plazma proteindir (81). Adiponektin, kan dolaşımında üç ana formda bulunmaktadır. Bunlar düşük-moleküler ağırlıklı trimer, orta-moleküler ağırlıklı heksamer ve yüksek moleküler ağırlıklı multimer formlarıdır. Tüm formların farklı biyolojik aktivitesi olduğu bilinmekle birlikte yüksek moleküler ağırlıklı multimer formunun en aktif form olduğu düşünülmektedir (38).

Adiponektinin genel olarak, insülin duyarlılığı ve farklı hücre tipleri üzerinde anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkiler oluşturduğuna dair bir görüş birliği bulunmaktadır (82). AdipoRon oral aktif, sentetik, küçük moleküllü bir adiponektin reseptör agonistidir (83). Bu molekül adiponektin reseptörüne bağlanmakta ve farelerde insülin direnci ve glukoz intoleransını düzeltmektedir (83). Daha da önemlisi, AdipoRon yüksek yağla beslenen

db/db farelerde yaşam süresini uzatmakta ve diyabet gelişimini önlemektedir (83).

Klinik çalışmalarda adiponektin düzeylerinin obezite, T2DM ve koroner arter hastalarında düşük olduğu tespit edilmiştir (84). Adiponektin, makrofajlardan TNF $\alpha$  salınımını ve makrofajların epitelyal makrofaj hücrelerine dönüşümünü baskılamaktadır (85). Adiponektin vasküler düs kaslarda depolanmaktadır ve damar duvarını KAH riskine karşı korumaktadır (86). Sağlıklı kişilerde yüksek adiponektin düzeyi anti-aterojenik, anti-diyabetik ve anti-inflamatuvar etkiler oluşturmaktadır. Adiponektin düzeylerindeki azalmanın metabolik sendromun temel belirteci olduğu düşünülmektedir (87).

#### **2.2.4. Apelin**

1993 yılında O'Dowd ve ark. anjiyotensin tip 1 reseptör geniyle oldukça büyük bir benzerlik (sekans benzerliği) gösteren bir gen keşfetmişlerdir (88). Bu yeni gen, APJ olarak isimlendirilerek G protein bağlı reseptör olarak kodlanmıştır (88). Daha sonra 1998 yılında Tatemoto ve arkadaşları tarafından tanımlanan apelin (89), ilk olarak sığır midesinden izole edilmiştir (90).

Apelin, glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayabilen ve artmış adipoz doku kitlesi ve obezite ile ilişkili metabolik hastalıklar arasındaki bağa katkıda bulunabilen bir adipokindir (91). Apelin ters farmakoloji ile keşfedilmiş bir adipokindir. Öncelikle reseptörü tespit edilmiş, ardından bu reseptörün endojen ligandı olarak apelin molekülü izole edilmiştir (92). İnsanlarda apelin ekspresyonu ilk olarak kaudat nükleus, hipokampus, talamus, paraventriküler nükleus, preoptik alan, periventriküler hipotalamus, ventromedial ve dorsomedial nükleuslar ve frontal kortekste belirlenmiştir (93). Daha sonraki çalışmalarda, apelin mRNA, özellikle omurilik, korpus kallazum, amigdala, substansiya nigra ve hipofiz bezinde gösterilmiştir (94). Apelin transkripsiyonu ve immünreaktivitesi santral sinir sistemi, kalp, akciğer ve meme dokusu gibi birçok periferik dokuda gözlenmiştir. Bu yaygın periferik ekspresyon nedeniyle, apelinin endotel hücresi kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (95). Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda ise apelinin yağ dokusunun yeni bir üyesi olduğu ve apelin mRNA ve proteininin deney hayvanları ve insanların subkutan yağ dokularından izole edilen adipositlerde ve vasküler stromal fragmanlarda mevcut olduğu gösterilmiştir (92).

Obezite, insülin direnci veya karaciğer sirozu olan hastalarda serum apelin konsantrasyonları yüksek düzeylerde bulunmuştur. Adipoz doku apelin ekspresyonu ve serum konsantrasyonundaki azalma kilo kaybından bağımsız olarak insülin duyarlılığında artmaya katkıda bulunmaktadır (96). Sıçanlara apelin reseptör antagonisti uygulanması, hepatik fibrozu ve asit oluşumunu azaltmaktadır. Bu bulgular apelinin belirli karaciğer hastalıklarında yeni bir terapötik hedef olabileceğini düşündürmektedir (97). Obez ve insülin dirençli farelerde rekombinant apelin enjeksiyonunun, iskelet kasında ve yağ dokusunda glukoz tüketimini artırarak glukoz düzeylerini

azaltıcı etki gösterdiği ve bu şekilde glukoz toleransını düzelttiği bildirilmiştir (98).

Bu bulgulara ek olarak farklı çalışmalarda apelinin kardiyovasküler fonksiyonlar (99), ön hipofiz fonksiyonları ve sıvı homeostazının düzenlenmesinde rol oynayabileceği (100), apoptozun baskılanmasında görev alabileceği (101) ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonunda bir ko-reseptör olarak işlev görebileceği bildirilmiştir (102).

Apelin en önemli etkilerini kardiyovasküler sistem üzerinde göstermektedir (103). APJ mRNA'sının sıçan kalbinde yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir (104). Sıçanlara intravenöz (iv) olarak uygulanan apelin çok kısa bir sürede ortalama arteriyel basınçta bir azalmaya yol açmaktadır (93).

Apelinin iv olarak uygulanması besin alımını etkilemezken, santral uygulanmasının besin alımında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (105).

#### **2.2.5. Vaspin (Viseral adipoz doku-kökenli serin proteaz inhibitörü)**

Viseral adipoz doku kökenli bir serin proteaz inhibitörü olan vaspin, serin proteaz inhibitör ailesinin bir üyesi olup, 2005 yılında tanımlanmıştır. Vaspin ilk olarak obez ve insülin dirençli sıçan modelinin yağ dokusunda tespit edilmiştir (106). Ayrıca hipotalamus, mide ve kemirgen pankreatik adacıklarında da eksprese edildiği bilinmektedir (107). İnsan vaspin mRNA'sı ise viseral ve subkutan adipoz dokuda gösterilmiştir (108).

Obez farelere vaspin uygulanması glukoz toleransı, insülin duyarlılığı ve insülin direncine aday genlerin ekspresyonlarında düzelme ile sonuçlanmaktadır (109). Farklı fare modellerine rekombinant vaspin uygulanması, glukoz düzeylerinde ve besin alımında sürdürülebilir azalmalarla sonuçlanmaktadır (107). Nakatsuka ve ark. vaspin genindeki değişikliklerin, obezite ile ilişkili metabolik hastalıklar üzerinde kompensatuvar etkilerden sorumlu olduğunu göstermişler ve vaspin transgenik farelerin diyetle oluşturulmuş obezite, glukoz tolerans bozukluğu ve yağlı karaciğere karşı korunduğunu, vaspin eksikliği olan farelerde ise, endoplazmik retikulum stres markerlarının upregülasyonu nedeniyle glukoz intoleransının geliştiğini bildirmişlerdir (110). Ayrıca, KAH olan bireylerde vaspin düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre düşük olduğu gösterilmiş ve vaspinin koroner arter hastalığının bir prediktörü olabileceği ileri sürülmüştür (111).

#### **2.2.6. BMP-7 (Kemik morfogenetik protein-7)**

BMP-7, transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) süperfamilyasına ait bir proteindir. BMP-7'nin kahverengi adipoz doku oluşumu üzerine direkt bir etki gösterdiği bildirilmiştir (112). BMP-7 kahverengi yağ dokusunu indüklemekte, enerji tüketimini artırmakta, besin alımını ve vücut ağırlığı artışını azaltmaktadır (113). Ayrıca BMP-7, kahverengi adipoz doku farklılaşmasını ve termogenezi uyarabilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle

BMP-7'nin klinik olarak kullanılma potansiyeline sahip yeni bir ajan olabileceği ileri sürülmüştür (114). Deney hayvanlarına kuyruk venleri aracılığıyla BMP-7 eksprese eden adenovirüs enjeksiyonu, kahverengi adipoz dokuyu artırırken, beyaz adipoz doku kütlesini değiştirmemiştir. Kahverengi adipoz doku kütlesindeki artış, enerji tüketiminde artma, yüksek bazal vücut ısısı ve vücut ağırlığında azalma ile sonuçlanmıştır (115).

BMP-7'nin, genellikle vasküler kalsifikasyonun eşlik ettiği bir hastalık olan kronik böbrek yetmezliğinin önemli bir regülatörü olduğu bildirilmiştir. BMP-7 tedavisinin, fare atreskleroz modelinde, artmış osteokalsin ekspresyon düzeylerini tersine çevirme ve vasküler kalsifikasyonu önlemede etkili olduğu gösterilmiştir (116).

İnsan rekombinant BMP-7 preparatı OP1 ticari ismi ile pazarlanmakta ve cerrahide kullanılmaktadır (117). Özellikle kemik greftinde başarılı olunamaması durumunda, tibia kırıklarından sonra kaynama tedavisinde ve nörolojik travmayı önlemek için vertabralarda füzyona yardımcı olmak amacıyla lokal olarak uygulanmaktadır. Rekombinant BMP-7'nin klinik uygulamalarda lokal ya da sistemik toksisite oluşturmadığı, ektopik kemik üretimi ya da diğer advers olaylarla ilişkili olmadığı bildirilmiştir (118).

### 2.2.7. Nesfatin-1

Nesfatin-1, yağ dokusu yanı sıra santral sinir sistemi, hipofiz, mide, pankreas ve testiste bulunmaktadır (119). Stres koşullarında strese adaptif yanıtta rol oynamasına ek olarak, nesfatin-1 izole kemirgen pankreas adacıklarında ve MIN (mouse insülinoma) hücre kültürlerinde preproinsülin mRNA ekspresyonunu artırmakta ve glukoz bağımlı insülinotropik etkiler oluşturmaktadır (120). İlginç olarak *db/db* farelere rekombinant nesfatin-1'in iv uygulanması, hiperglisemiyi anlamlı şekilde azaltmakta, santral olarak uygulanması ise bu tür bir etki oluşturmamaktadır. Bu bulgular nesfatin-1'in  $\beta$  hücreleri üzerinde direkt bir glukoz bağımlı insülinotropik etkiye sahip olduğu hipotezini desteklemektedir (121).

Nesfatin-1, sıçan beyni lateral ventrikülüne intraserebroventriküler olarak düşük dozda (5 pmol) enjekte edildiğinde besin alımında enjeksiyondan 3 saat sonraya kadar süren, yüksek dozda (25 pmol) enjekte edildiğinde ise 6 ila 48 saat devam eden bir azalmaya neden olmaktadır (122). Nesfatin-1 anoreksijenik yolların yanı sıra oroksijenik beyin peptidi nöropeptid Y'nin (NPY) aktivitesini de etkilemektedir. İn vitro olarak nesfatin-1'in direkt olarak arkuat nöronlara uygulanması, NPY pozitif nöronların hiperpolarizasyonu ile sonuçlanmakta ve bu durum anoreksijenik etkiye katkıda bulunmaktadır (123). Anoreksijenik etkiye ek olarak nesfatin-1'in intraserebroventriküler olarak 10-540 pmol arasında enjekte edilmesi su tüketimini azaltmaktadır (124). Bu nedenle nesfatin-1'in sıvı dengesinde de rolü olduğu düşünülmektedir (125).

İmmün boyama çalışmaları nesfatin-1'in, kardiyomyosit çekirdeğinin çevresindeki endoplazmik retikulum ve golgi aparatında lokalize olduğunu



göstermektedir (126). Nesfatin-1, fare kardiyak hücrelerinde ve neonatal sıçan kardiyomiyosit hücre kültürlerinde glukoz geri alınımında artmayı indüklemektedir (127).

Sıçan çalışmalarında, perfüze kalplere nesfatin-1 uygulanmasının negatif inotropizmi indüklediği ve lusitropizmi düzenlediği gösterilmiştir. Ayrıca, nesfatin-1 sistolik, ortalama ve diastolik kan basıncını artırmakta SNP ile oluşan kan basıncı düşüşünü ise azaltmaktadır (127).

Nesfatin-1 in kalpte iskemiye karşı koruyucu bir rol de üstlendiği ileri sürülmüştür. Bu peptid enfaktüs boyutunu, laktat dehidrogenaz salınımını ve post-iskemik kontraktürü azaltarak iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etki göstermektedir (126).

Serum nesfatin-1 düzeylerinin major depresif bozukluğu olan hastalarda normal populasyona göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (128). Genel anksiyete bozukluğu tanısı konan 40 erkek hastada yapılan bir çalışmada ise plazma nesfatin-1 düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bulunmuştur (129). Nesfatin-1'in iv enjeksiyonu doza bağımlı bir şekilde anksiyete ve korkuyla ilişkili davranışların artmasına neden olmaktadır (130). Düşük doz (5 pmol) nesfatin-1'in beslenmeyi azaltırken, yüksek dozların (25-80 pmol) anksiyeteye benzer davranışları artırdığı bildirilmiştir (131).

#### **2.2.8. DPP-4 (Dipeptidil peptidaz-4)**

Dipeptidil peptidaz-4'ün (DPP-4) insan adipoz doku adipositlerinden salındığı 2011 yılında gösterilmiştir (132). DPP-4 enzimi, inkretin glukagon benzeri peptid-1'i (GLP-1) amino terminalinden yıkan ve yarı ömrünü kısaltan bir enzimdir. GLP-1'in post-prandiyel insülin sekresyonunun 2/3'ünden sorumlu olduğu ve bu nedenle  $\beta$ -hücre fonksiyonunda temel bir rol oynadığı düşünülmektedir (133). GLP-1'in pankreatik  $\beta$ -hücre proliferasyonunu stimüle edebileceği ve  $\beta$ -hücre kütlesini düzenleyebileceği bildirilmiştir (38).

Kilolu olmayan bireylere kıyasla obezlerde adipoz dokudan daha fazla DPP-4 salgılandığı gösterilmiştir (134). Ayrıca, obez insülin duyarlı hastalar, obez insülin dirençli hastalarla karşılaştırıldıklarında daha düşük DPP-4 düzeylerine sahiptirler (134). DPP-4 inhibitörleri, inkretinlerin etkisini, süresini ve plazma konsantrasyonlarını artırarak indirekt yoldan hipoglisemik etki oluşturmaktadırlar (135). Halen alogliptin, sitagliptin, linagliptin, saxagliptin ve vildagliptin gibi DPP-4 inhibitörleri glukozla oluşan pankreatik insülin sekresyonunu stimüle ederek ve glukagon üretimini baskılayarak glisemik kontrol sağlayan anti-diyabetik ilaçlar olarak klinikte kullanılmaktadır (136).

#### **2.2.9. IL-1 $\beta$ (İnterlökin-1 Beta)**

Özellikle kan monositleri ve doku makrofajları tarafından üretilen ve hem akut hem de kronik inflamasyonun bir göstergesi olan interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) (137), aynı zamanda adipoz dokuda da bulunmakta ve salgılanmaktadır (138). IL-1 $\beta$  proinflamatuvar bir sitokindir ve inflamatuvar

pankreatik  $\beta$  hücre zedelenmesinde rol oynayarak tip 1 diyabete neden olduğu ileri sürülmektedir (139). IL-1 $\beta$ , beta hücrelerinin fonksiyonunu inhibe edip, apoptozuna neden olmaktadır (139). Rekombinat insan IL-1 reseptör antagonistiyle (anakinra) IL-1'in blokajının, glisemiye ve  $\beta$ -hücre fonksiyonunu düzelttiği ve çift kör, T2DM'li 70 hastayı içeren paralel gruplu bir çalışmada sistemik inflamasyon belirteçlerini azalttığı gösterilmiştir (139).

#### **2.2.10.FGF-21 (Fibroblast Büyüme Faktörü-21)**

Fibroblast büyüme faktörleri (FGFs) nematodlardan insana kadar uzanan pek çok organizmada bulunan, polipeptid yapılı büyüme faktörlerinin geniş bir ailesini oluşturmaktadırlar (140). İnsan FGF ailesindeki 22 üyenin molekül ağırlığı 17 kDa ve 34 kDa arasında değişmektedir (141). FGF'ler arasında %13-%71 düzeylerinde amino asit benzerliği bulunmaktadır (140). FGF'ler heparan sülfat proteoglikanlara yüksek afinite göstermektedirler ve hücre yüzeyindeki FGF reseptörünü aktive etmek için heparan sülfata ihtiyaç duymaktadırlar (140). FGF-21'in FGFR-1 ve FGFR-2 olmak üzere iki reseptörü mevcuttur (142). FGF'ler embriyonik gelişim süresince, hücre proliferasyonu, migrasyonu ve farklılaşmasının düzenlenmesinde çeşitli rollere sahiptirler (140). Ayrıca yetişkin organizmada yara iyileşmesi ve doku onarımında görev yapmaktadırlar (140).

FGF süperfamilyasının bir üyesi olan FGF-21'in temel olarak karaciğer ve adipoz dokuda üretildiği ve önemli bir metabolik düzenleyici olduğu anlaşılmıştır (143). Ayrıca pankreas  $\beta$  hücrelerinde de FGF-21 ekspresyonu gösterilmiştir (144). İnsanlarda FGF-21 ekspresyonunun adipoz dokuya göre karaciğerde 100 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (145). İnsan FGF-21 proteini, 28 amino asitli sinyal peptidi ile toplam 209 amino asitten oluşmaktadır (146). İnsan FGF-21 geni 19. kromozomda lokalizedir (140). FGF-21'in glukoz ve lipid düşürücü etki yanı sıra,  $\beta$ -klotho isimli bir kofaktör ve spesifik FGF reseptörleri aracılığıyla termojenik etkiler oluşturduğu gösterilmiştir (143).  $\beta$ -klotho adipoz dokuda, karaciğerde ve pankreasta eksprese edilmekte ve bu dokularda FGF-21'in önemli etkilerine katkıda bulunmaktadır (147).  $\beta$ -klotho'dan yoksun hücrelerin FGF-21'e duyarlı olmadığı ve bu hücrelere  $\beta$ -klotho verildiğinde hücrelerin FGF-21'e yanıt verdiği görülmüştür (148). FGF-21 hayvan modellerinde yararlı metabolik etkiler oluşturmaktadır (143). Ayrıca obez ve T2DM'li hastalarda, FGF-21 analogu LY2405319'un randomize, plasebo kontrollü, çift kör bir çalışmada vücut ağırlığı ve açlık insülin düzeyleri üzerinde olumlu etkiler gösterdiği, LDL kolesterol ve trigliserid düzeylerini azalttığı ve HDL kolesterol düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (143).

FGF-21, FGF ailesi üyelerinin çoğunluğunda görülen ve bu ailenin üyelerinin tipik bir bulgusu olan proliferatif ve tümörojenik etkiden yoksundur (149). Hayvan çalışmalarında FGF-21 güçlü anti-inflamatuvar, anti-diyabetik ve hipolipidemik etkiler göstermektedir (142). FGF-21 ayrıca fiziksel aktiviteyi azaltmaktadır (150). Deney hayvanlarında FGF-21'in önemli bir metabolik rolü olduğu bilinmekle birlikte insanlarda düzenleyici etkilerine yönelik veriler sınırlıdır (145).

### 2.2.11.Resistin

Resistin 2001 yılında ilk kez obez farelerde keşfedilen 114 amino asid içeren bir adipositokindir. Resistin, antidiyabetik ilaç tiyazolidindionların mekanizması araştırılırken saptanmıştır. Tiyazolidindionlar, peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör gama (PPAR $\gamma$ ) ile aktive ederek insüline duyarlılığı artıran ilaçlardır. Resistinin rosiglitazon ile indüklenen PPAR $\gamma$  aktivasyonunu güçlü bir şekilde down-regüle ettiği gösterilmiş ve bir “diyabet geni” adayı olarak öne sürülmüştür. İnsanlarda temel olarak makrofajlarda eksprese edilmektedir. Bunun yanı sıra plasenta,  $\beta$ -hücreleri, iskelet kası, ince barsaklar, mide, timus, tiroid bezi ve uterusda da bulunduğu anlaşılmıştır. İnsülin rezistansındaki rolü nedeniyle “resistin” ismini almıştır (38).

Resistin farelerde pankreas  $\beta$ -hücre apoptozuna neden olmaktadır. Dolayısıyla resistinin T2DM'ye neden olabileceği anlaşılmaktadır. Sitokin sinyalizasyon baskılayıcı (Suppressor of cytokine signalling 3; SOCS3) proteinin özellikle insülin sinyalinin sonlandırılmasında önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Resistin adipositlerde SOCS3 sinyalini aktive etmektedir. Farelerde resistinin, iskelet kasında insülin aracılı glikojen sentezini ve glukoz alımını inhibe ettiği gösterilmiştir. Resistinin glukoz transporter tip4 (GLUT4) glukoz taşıyıcıların hücre içi havuzdan hücre membranına taşınmasını engellediği düşünülmektedir. Resistin, glikojen sentezini azaltmakta, glikojen fosforilaz aktivitesini artırmaktadır (151).

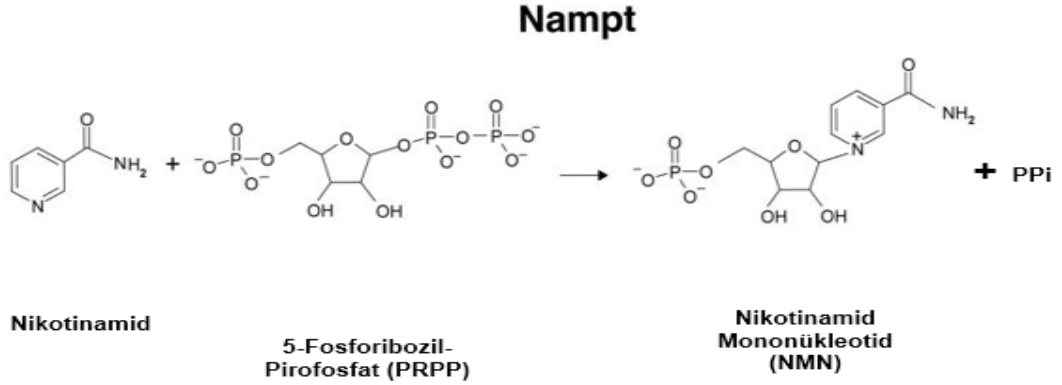
Resistin düzeyi ile vücut yağ oranı arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Obezite ile resistin düzeyleri arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır. Adiposit sayısı arttıkça sentezlenen resistin miktarı da artmaktadır. Bu durum glukozun insülin aracılığı ile adipoz dokuya alınmasını azaltmaktadır. Metabolik sendromlu bayanlarda plazma resistin düzeylerinin arttığı bildirilmiş ancak bazı çalışmalarda resistin düzeyleri ile tip 2 diyabet ve insülin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Klonal  $\beta$ -hücrelerinde resistinin insülin reseptör ekspresyon düzeylerini down-regüle ettiği ve hücre sağ kalımını azalttığı bildirilmiştir. Resistin ile pankreatik  $\beta$ -hücrelerinde indüklenen insülin direnci sonrasında, glukozla stimüle edilen insülin salınımında azalma oluşabileceği de gösterilmiştir. Diğer taraftan resistinin pankreatik  $\beta$ -hücreleri üzerinde etkilerinin incelendiği çalışmalarda fare hücreleri kullanılmıştır. İnsanlarda bu konuya yönelik çalışmalar halen tamamlanmamıştır. Resistinin insan pankreatik  $\beta$ -hücre fonksiyon ve kütlesi üzerindeki düzenleyici etkilerinin belirlenebilmesi için ileri araştırmalara gereksinim duyulmaktadır (152).

### 2.2.12.Nampt/Visfatin/PBEF

#### 2.2.12.1.Visfatin'in Tarihçesi

İlk kez Pre B hücre koloni artırıcı faktör (pre-B cell colony-enhancing factor: PBEF) olarak tanımlanan visfatin, IL-7 ve kök hücre faktörleri ile birlikte sinerjistik bir şekilde, B hücre prekürsör büyümesini uyaran bir salgı faktörü olarak izole edilmiştir (4). Visfatin, nikotinamid adenin dinükleotid

(NAD) biyosentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan nikotinamiden, nikotinamid mononükleotid (NMN) sentezini sağlayan enzim olan nikotinamid fosforibozil transferaz (Nampt) olarak da adlandırılmaktadır (153; 154) (Şekil 2.3). Visfatin'in amino asid dizisinin, PBEF/Nampt ile aynı olduğu anlaşılmıştır (6). 2005 Ocak ayında, Fukuhara ve arkadaşları visfatini bir adipositokin olarak tanımlamışlardır (6).



**Şekil 2. 3.** Nikotinamid fosforiboziltransferaz (Nampt)'in enzimatik aktivitesi. Bu şekil, (154) nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

### 2.2.12.2.Visfatin'in Yapısı

491 amino asid içermektedir (155). Visfatin, dimerik proteinin arayüzünde iki aktif bölgeye sahiptir ve enzimin katalitik aktivitesi için dimerizasyon gerekmektedir (156). Her monomer 19  $\beta$ -tabaka ve 13  $\alpha$ -heliks içermektedir ve iki yapısal domainin içine organize olmuşlardır (157).

İnsanlarda visfatin geni 7q22.1 ve 7q31.33 arasında 7. kromozomun uzun kolunda lokalizedir (158). 11 ekson ve 10 introndan oluşmaktadır ve 34.7 kb büyüklüğündedir (6). Visfatin geni evolusyon sırasında oldukça iyi korunmuştur. Örneğin, köpek visfatin proteini insan visfatini ile %96, kemirgen visfatini ile %94 benzerlik göstermektedir (159).

### 2.2.12.3.Visfatin'in Organ ve Doku Dağılımı

Samal ve arkadaşları, ilk kez 1994 yılında periferal kan lökositlerinde PBEF'in varlığından bahsetmişlerdir (4). Visfatin temel olarak beyaz adipoz dokuda üretilmektedir (6) ancak sadece visceral yağda değil başka dokularda da bulunmaktadır; periferal kan lökositleri (4), adipoz doku makrofajları (160), hepatositler (161) ve iskelet kasları da (162) visfatin üretmekte ve plazma visfatin düzeylerine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca kemik iliği, karaciğer ve kas dokusunda oldukça yüksek düzeyde visfatin protein ekspresyonu bildirilmiştir (155). Visfatin bu dokular dışında böbrek, dalak, testis ve

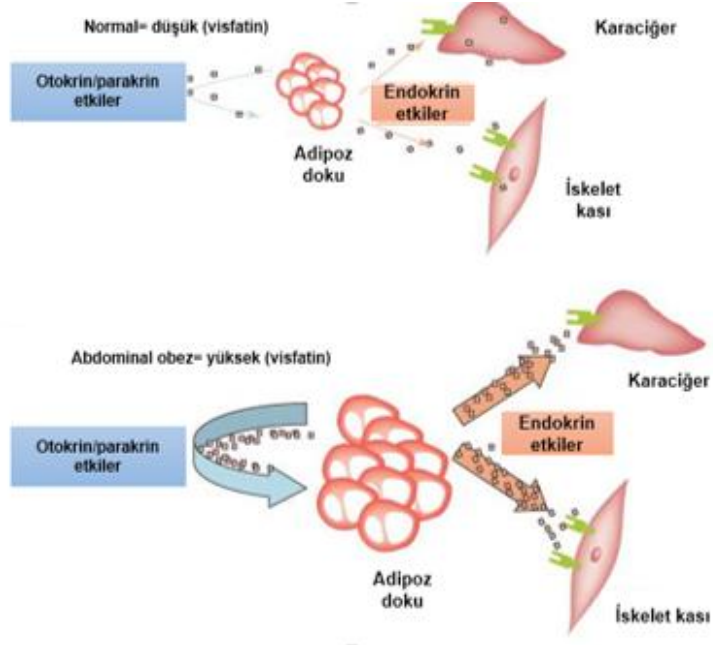
akciğerde de bulunmakta ve subkutan yağdan ziyade viseral yağda lokalize olmaktadır (163). Visfatin'in hayvan ve insan beyinde de bulunduğu gösterilmiştir (164). Hamilelik sırasında fetal membranlar tarafından da visfatin salgılanmaktadır (165).

#### **2.2.12.4.Visfatin Ekspresyonunun Düzenlenmesi**

Adipoz doku içinde, adipositlerden ziyade temel olarak adipoz doku makrofajlarının visfatini ürettiği ve salgıladığı bulunmuştur (6). Benzer şekilde, insan adipoz dokusunda, visfatin ve makrofaj spesifik CD68 ve TNF $\alpha$  gen ekspresyonları arasında güçlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Tüm bu bulgular, visfatin'in temel olarak proinflamatuvar bir madde olduğunu ve özellikle viseral adipoz doku makrofajlarının neden olduğu viseral obezitede arttığını desteklemektedir (6).

Mayi ve arkadaşları adipoz doku makrofajlarında visfatin ekspresyonu ve sekresyonunun düzenlenmesinde nükleer reseptör PPAR $\gamma$ 'nın rolünü araştırmışlardır (166). Bu çalışmada, PPAR $\gamma$ 'nın sentetik ligandlarını kullanmışlardır ve adipositlerde değil ama makrofajlarda visfatin ekspresyon ve sekresyonunun arttığını gözlemlemişlerdir. Birkaç ay sonra Mayi ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, makrofajlarda karaciğer X reseptör (LXR) aktivasyonunun visfatin ekspresyonunu negatif olarak düzenlediğini saptanmıştır (167). Sentetik LXR ligandları visfatin gen ekspresyonunu azaltmakta ve visfatin mRNA'nın azalması protein sekresyonunda bir azalma ile paralellik göstermektedir. Bu iki çalışma birlikte ele alındığında, makrofajlarda visfatin ekspresyonu ters bir düzenleme göstermektedir (168).

Günümüze kadar visfatin'in iki farklı formu tanımlanmıştır. İntrasellüler formu NAD-bağımlı enzimlerin aktivitesinin sürdürülmesinde temel bir rol oynamakta ve besin alımına yanıt, maturasyon ve hayatta kalma (survival) gibi hücrel metabolizma olaylarının düzenlenmesinde görev almaktadır (154; 169). Ekstrasellüler formu ise direkt ekstrasellüler çevreye salınmakta ve bu şekilde geniş bir alanda endokrin/parakrin etkiler gösterebilmektedir (154). Bu etkilerini özellikle periferik organlarda göstermektedir (170) (Şekil 2.4).



**Şekil 2. 4.** Visfatin ve etkileri. Bu şekil, (170) nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

#### 2.2.12.5.Visfatin ve Lipid Profili

Dolaşımdaki visfatin'in fizyolojik rolünü net bir şekilde ortaya koymak oldukça zor görünmektedir. Plazma visfatin konsantrasyonlarının diyabetik olmayan beyaz ırktan insanların HDL kolesterol değerleri ile pozitif (171), trigliseridleriyle negatif ilişkisi olduğu bildirilmiştir (172). Visfatin'in lipid metabolizması ile ilişkisi viseral obezite ve insülin direncinden bağımsız gibi görünmektedir ve muhtemelen NAD sentezinde intrasellüler enzimatik fonksiyonlara bağımlıdır (172).

Metabolik sendromlu ve metabolik sendromsuz bir grup hastanın karşılaştırıldığı bir çalışmada ise çelişkili sonuçlar alınmıştır. Plazma visfatin düzeyleri trigliserid ile pozitif, HDL kolesterol düzeyleri ile negatif korelasyon göstermiştir (173).

Başka bir çalışmada ise plazma visfatin düzeylerinin, erkeklerde değil de sadece bayanlarda, HDL kolesterol düzeyleri ile pozitif, LDL kolesterol düzeyleri ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (174).

61 sağlıklı genç erkeğin kısa bir süre boyunca aşırı beslendiği bir diğer çalışmada, visfatin plazma düzeyleri araştırılmıştır. Visfatin düzeylerinde %19'luk bir artış gözlenmiş ve plazma visfatin konsantrasyonları ile trigliserid düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (175). Ayrıca plazma visfatin düzeyleri, Asya kökenli erkek ve kadınlarda HDL kolesterol düzeyi ile pozitif korelasyon göstermiştir (176).

#### **2.2.12.6.Visfatin ve Obezite**

Nampt/visfatin ilk önce temel olarak viseral yağdan salgılanan ve insülin mimetik etki oluşturan bir adipokin olarak tanımlanmıştır (6). Daha sonra yapılan insan çalışmaları, visfatin'in diğer dokularda ve farklı adipoz doku depolarında da eksprese edilebileceğini, ayrıca visfatin'in insülin mimetik etkilerinin tartışmalı olduğunu göstermiştir (154). Nampt/visfatin, nikotinamid ve fosforibozilpirofosfattan (PRPP) nikotinamid mononükleotid (NMN) sentezinde önemli bir enzimatik fonksiyona sahiptir (177). Son zamanlarda, hiperkalorik beslenme yanı sıra yaşlanmanın da Nampt-aracılı NAD<sup>+</sup> biyosentezini bozduğu ve bu nedenle T2DM patogenezinde katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (177). Yoshino ve ark. yakın zamanda, obez ve T2DM'li fare modellerine NMN uygulanmasının, NAD biyosentezini artırarak glukoz intoleransını düzelttiğini ve hepatik insülin duyarlılığını arttırdığını göstermişlerdir (177). Nampt/visfatin'in glukoz homeostazındaki değişikliklere katkısında en azından sirtuin1 (SIRT1) aktivasyonu aracılığıyla oksidatif stres, inflamatuvar yanıt,  $\beta$ -hücre fonksiyonu ve sirkadiyen ritim ile ilgili genlerin ekspresyonundaki değişikliklerin rol oynayabileceği düşünülmektedir (177).

#### **2.2.12.7.Çocuklarda ve Ergenlerde Visfatin**

Çocukluk çağında obezite, gelişmiş ülkelerde artan bir problemdir ve bu periyotta hipertansiyon ve insülin direnci gibi patolojilerle ilişkilidir. Visfatin plazma düzeyleri 30 obez ve 30 obez olmayan çocukta çalışılmış ve bu çocuklardaki düzeylerin yetişkinlerle hemen hemen aynı olduğu saptanmıştır. Visfatin plazma düzeyleri ile vücut kitle indeksi (body mass index; BMI) ve insülin düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar gözlenmiştir (178).

Çinli gençlerde plazma visfatin düzeylerinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada, normal kilolu bireylerde değil ama sadece obezlerde visfatin ve HDL kolesterolün plazma düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon belirlenmiştir (171). Obez bireylerde plazma visfatin konsantrasyonları anlamlı olarak yüksek olmasına karşın BMI ile direkt bir korelasyon göstermemektedir. Visfatin plazma konsantrasyonlarının obez olmayan bireylerle kıyaslandığında obezlerde hemen hemen 2 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (179).

Bir başka çalışmada ise yaşları 3-17 olan 175 obez hasta incelenmiştir. Metabolik sendromlu çocuklardan oluşan grubun plazma visfatin düzeyleri, diğer gruplardan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Visfatin plazma düzeylerinin metabolik sendrom bileşenlerinin sayısı ile orantılı bir şekilde arttığı bildirilmiştir (174).

#### **2.2.12.8.Visfatin ve Böbrek Hastalığı**

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarla yapılan çalışmalarda, PBEF düzeylerinin glomerular filtrasyon hızını etkilediği ancak insülin direnciyle ilişkisinin olmadığı saptanmıştır (180). PBEF düzeyleri, endotelial hasarın bir belirteci olan VCAM-1 düzeyleri ile korelasyon göstermektedir. PBEF düzeylerinin, yüksek glukoz düzeyleri ile mezenşiyal hücrelerde arttığı

bildirilmiştir (181). Anjiyotensin II ise PBEF düzeylerini artırmaktadır. İlginç bir şekilde, yüksek PBEF düzeylerinin GLUT-1 aracılığıyla hızlı bir glukoz alımına neden olduğu ve diyabetik nefropatide rol oynayabileceği bildirilmiştir.

#### **2.2.12.9.Visfatin ve Kanser**

Çeşitli kanserlerde visfatin ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (182). Kolorektal kanserde artmış visfatin düzeylerinin hücre döngü regülasyonu ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (183). Farklı tümör hücre kültürleri ile yapılan çalışmalarda, visfatin ekspresyonu artmış olan hücrelerin apoptozise ve kemoterapötik ajanlara daha dirençli olduğu gösterilmiştir (182).

Tümörlerde kronik inflamasyonun varlığı kanser progresyonu ve kemoterapötiklere direnç bakımından önem taşımaktadır (182). Pankreatik adenokarsinom hücre kültürleri ile yapılan bir çalışmada, IL-1 ile visfatin ekspresyonunun indüklendiği gösterilmiştir (184). Kanser progresyonunda önemli bir rolü olan anjiyogenez, solid tümörlerin santral bölgesinde gelişen hipoksi ile tetiklenmektedir (182). Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) meme kanser hücre kültüründe, hipoksinin visfatin mRNA ve protein seviyesi düzeyini artırdığı ve hipoksi durumunda visfatin geninin, "hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfa" ile indüklendiği bildirilmiştir (185).

SIRT1, aktivasyon için NAD'a ihtiyaç duymakta (186) ve visfatin/Nampt, NAD biyosentezinin sistemik olarak düzenlenmesinde temel bir rol oynamaktadır (187) Visfatin ekspresyonunun insan prostat kanser hücrelerinde SIRT1 ile birlikte arttığı, visfatin inhibe edildiğinde ise bu hücrelerde hücre büyümesi, invazyon ve koloni oluşumunun anlamlı bir şekilde baskılandığı bildirilmiştir (188). SIRT1 deasetilaz aktivitesi ile birlikte visfatin ekspresyonundaki artmanın bir tümör baskılayıcı gen olan p53'ün transkripsiyonel aktivitesini baskılayarak tümör hücrelerini ölümden koruduğu da gösterilmiştir (189). Visfatin aynı zamanda meme ve prostat kanser hücrelerinde, tümör metastazı ve anjiogenezde önemli rol oynayan matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ile VEGF'nin ekspresyonunu da artırmaktadır. Visfatin ekspresyonundaki artmanın tümör progresyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (14; 190; 191).

Visfatin'in kanser tedavisinde yeni bir terapötik hedef olabileceği düşünülmekte ve bu konuda yapılan çalışmalar giderek artmaktadır (192). Nampt aktivitesinin inhibisyonu, tümör büyümesini destekleyen yeni damar oluşumunu (anjiogenez) kısıtlayabilmektedir. Nampt inhibitörleri FK866 (APO866) ve CSH-828 bu alana yönelik çeşitli klinik araştırmalarda kullanılmaktadır (193; 194).

#### **2.2.12.10.Visfatin ve Akut Akciğer Hasarı**

Visfatin'in, sepsis durumunda nötrofillerin apoptozunu inhibe etmesi, akut akciğer hasarında yeni bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmüştür (183).



Visfatin'in akut akciğer hasarında rol oynayabileceği ilk olarak Ye ve ark. tarafından akut akciğer hasarı sırasında visfatin düzeylerinin üç kat artmasıyla gösterilmiştir (195). Aynı zamanda, visfatin'in akut akciğer hasarının hem mekanik hem de inflamasyon bileşenleri için bir reseptör fonksiyonu gösterebileceği ileri sürülmüştür: Trombinle indüklenen inflamatuvar reaksiyonların tamamlanması için PBEF'in gerekli olduğu ve ekstrasellüler  $Ca^{2+}$  bağımlı hücre iskeleti yeniden düzenlenmesinde PBEF'in rol oynayabileceği bildirilmiştir (196). PBEF'in daha sonra, insan pulmoner vasküler endotelial hücrelerinde NADH dehidrogenaz subunit 1 (ND1), ferritin hafif zincir ve interferon indüklü transmembran 3 (IFITM3) ile etkileşime girdiği gösterilmiştir (197). ND1 ve IFITM3, inflamasyon ve oksidatif strese ve ventilatör indüksiyonlu akciğer hasarında (VILI) da rol oynamaktadır (198). PBEF'deki azalmanın VILI'nın şiddetini hafiflettiği saptanmıştır. PBEF ile akut akciğer hasar gelişiminin, PBEF'in sitokin salınımını artırıcı etkileri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (199). PBEF'in bazal düzeyi yükselmekte ve TNF $\alpha$ -aracılı IL-8 salınımında 5-10 kat, hücre permeabilitesinde ise %30'dan fazla artma gözlenmektedir (199).

#### **2.2.12.11.Visfatin ve Ateroskleroz**

Ateroskleroz; CRP, proinflamatuvar sitokinler, metalloproteinazlar, adezyon molekülleri, selektinler gibi inflamatuvar belirteçlerin kronik artışıyla karakterize, inflamatuvar bir hastalıktır (200). Kardiyovasküler hastalıklar kapsamında ele alındığında, visfatin'in düşük derecede kronik bir inflamasyon şeklinde karakterize edilen aterosklerozda bir belirteç olarak değerlendirilebileceği öne sürülmüştür. Periaortik ve perikoronar yağ dokusu visfatin ekspresyonundaki artma ile koroner ateroskleroz gelişimi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Bu bulgu da perivasküler visfatin'in aterosklerotik lezyonların gelişiminde önemli bir parakrin rol oynayabileceğine işaret etmektedir (13). Visfatin gen ekspresyonu aterosklerozlu hastaların karotid plaklarında artmıştır ve lipid zengin makrofaj bölgelerinde lokalize olmuştur (12). Hem okside LDL (ox-LDL) hem de TNF- $\alpha$  monositlerde daha fazla visfatin ekspresyonuna neden olmuştur. Ancak, aterosklerozlu hemodiyaliz hastalarında yapılan bir çalışmada, visfatin düzeylerinin aterosklerotik değişimlerden çok hastanın inflamatuvar durumu ile korele olduğu gösterilmiştir (201). Sonraki çalışmalarda, PBEF'in insan endotelial hücrelerinde MCP-1 ve cinnamoil-CoA reductase (CCR) mRNA ekspresyonunu ve protein sekresyonunu indüklediği ve bu proteinlerin her ikisinde de visfatin'in anjiyogenezi uyarma etkisini daha da destekledikleri saptanmıştır (202).

#### **2.2.12.12.Visfatin ve İnflamatuvar Hastalıklar**

Serum visfatin düzeylerinin dolaşımdaki IL-6, CRP ve MCP-1 gibi inflamatuvar belirteçler ile pozitif korelasyon gösterdiği (203) ve visfatin düzeylerinin osteoartrit, akut akciğer hasarı, inflamatuvar barsak hastalığı, Crohn's hastalığı, infeksiyonla indüklenen erken doğum, sepsis ya da sedef hastalığı gibi inflamatuvar durumlarda arttığı bildirilmiştir (22; 203). Visfatin aynı zamanda monositler üzerinde direkt etkisi ile de vasküler inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Visfatin periferik mononükleer hücreler tarafından

TNF $\alpha$  ve IL-8 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin sentez ve salınımını artırmaktadır (12). Visfatin bu şekilde makrofaj sağkalımını kolaylaştırarak vasküler inflamasyonun devam etmesine katkıda bulunmaktadır (199).

İnsan monositleri ile yapılan bir çalışmada visfatin'in doza bağımlı şekilde IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  ve IL-6 sentezini, yüksek konsantrasyonlarda ise antiinflamatuvar sitokinlerden IL-10 ve interlökin-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir. Bununla birlikte visfatin monositlerde, T hücre aktivasyonunda ko-stimulan olarak rol oynayan ICAM-1, CD40 ve CD80'in yüzey ekspresyonunu da artırmaktadır (203). Endotoksemili fareler ile yapılan bir çalışmada Nampt enzim inhibitörü APO866 ile visfatin'in enzimatik inhibisyonu sonrasında inflamatuvar hücrelerde intrasellüler NAD ve dolaşımdaki TNF $\alpha$  düzeylerinde bir azalmanın gözlenmesi, inflamatuvar hücrelerdeki sitokin sentezinde visfatin'in enzimatik bir rolüne işaret etmektedir (204). Lipopolisakkarit ile inflamatuvar yanıt oluşturulan nötrofillerde visfatin sentez ve salınımının arttığı ve visfatin'in apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir. Sepsisli hasta nötrofillerinde de, visfatin ekspresyonunun arttığı ve visfatin'in bu hastalarda nötrofil apoptozunda gecikmeye neden olduğu bildirilmiştir (158). Visfatin'in klinik sepsis durumunda kaspaz-3 ve kaspaz-8 aracılığıyla nötrofillerin apoptozunu önlediği bildirilmiştir (158).

Makrofajların, dendritik hücrelerin ve kolonik epitelyal hücrelerin de visfatin salgıladığı bilinmektedir. Visfatin'in prostaglandin E<sub>2</sub>'nin aşırı salınımını tetikleyerek osteoartritte de rol oynayabileceği bildirilmiştir (205). Visfatin'in, mikrozomal PGE sentaz-1 (mPGES-1) sentezini artırarak ve 15-hidroksi-PG dehidrogenazı (15-PGDH) azaltarak bu etkiyi oluşturduğu saptanmıştır. PGE<sub>2</sub> inflamatuvar koşullarda COX2 ve mPGES-1 tarafından sentezlenmek ve 15-PGDH tarafından NAD<sup>+</sup> bağımlı reaksiyonla katabolize edilmektedir. Visfatin, A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs-4 (ADAMTS-4), ADAMTS-5, matriks metalloproteinaz-3 (MMP-3) ve matriks metalloproteinaz-13 (MMP-13)'ün salınımını da uyarmaktadır. Visfatin'in ayrıca romatoid artrit (RA) oluşumuna ve progresyonuna katkıda bulunduğu bilinmektedir (206). IL-6 trans sinyali ve IL-6 benzeri sitokin oncostatin M, RA patogeneğinde visfatin'in etkisine aracılık etmektedirler. RA'li hastalarda, visfatin'in sinoviyal fibroblastlarda bulunan sitokinler ve toll-like reseptörler ile arttığı bulunmuştur (207). Visfatin'in sinoviyal sıvıdaki düzeyleri, inflamasyon ve hastalık aktivitesinin derecesi ile korelasyon göstermektedir. RA hastalarda visfatin'in plazma düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (208).

### **2.2.12.13.Visfatin ve Diyabet**

Visfatin'in insülin mimetik etkilere sahip olduğu ilk kez Fukuhara ve ark. tarafından yapılan çalışmada ortaya çıkarılmıştır. Visfatin insülin reseptöründe ayrı bir bölgeye sahiptir (92). Visfatin, insülin ile benzer reseptör afinitesine sahip olmakla birlikte plazma konsantrasyonları insüline oranla 40-100 kat daha düşüktür (209). Visfatin'in glukoz homeostazında önemli bir rol oynadığını gösteren çok sayıda kanıt mevcuttur (179). Konuya

yönelik ilk çalışmalarda visfatin'in, karaciğer, kas, yağ gibi insüline duyarlı dokularda insüline benzer bir rol oynadığı bildirilmiştir (6). Visfatin'in insülin benzeri etkisinde iki ayrı mekanizma ileri sürülmüştür: 1) periferel dokularda insülin duyarlılığının modülasyonu şeklinde endokrin bir etki, 2) viseral adipoz dokuda farklılaşmayı ve yağ birikimini kolaylaştırıcı otokrin/parakrin etki (170). Lenfositler tarafından üretilen visfatin'in, insülin direncini azalttığı bildirilmiştir (6). Visfatin sentezi ve salınımının çeşitli obez hayvan modellerinin yanı sıra abdominal obez ve/ve ya T2DM'li insanlarda upregüle olduğu gösterilmiştir (210). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise visfatin'in insülin reseptörleri üzerine olan etkilerine yönelik olarak çelişkili sonuçlar bildirilmiş (10; 154; 211). İnsüline duyarlılaştırıcı uygulamaların plazma visfatin düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır (212).

#### **2.2.12.14.Visfatin ve İskemik İnme**

İskemik inme, genellikle karotis ve intrakraniyel aterosklerotik lezyonların neden olduğu beyin arteriyel kan akımında akut blokaj sonucu meydana gelmektedir (188). Plazma visfatin düzeylerinin iskemik inmeli hastalarda arttığı gösterilmiş ve hastalıkla ilişkili bağımsız bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmüştür (213). Visfatin'in nöronlarda glial hücrelere göre daha fazla eksprese edilmesi nöronların biyolojik fonksiyonlarında visfatin'in rolüne işaret etmektedir. Visfatin'in *in vivo* ve *in vitro* modellerde nöroprotektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir (188). Orta serebral arter oklüzyonu ile beyinde iskemi oluşturulmuş sıçanlarda yapılan bir çalışmada, artmış visfatin ekspresyonu olan grupta infarkt alanında anlamlı bir azalma saptanmıştır (188). Diğer bir çalışmada ise, primer kortikal nöron kültürlerinde visfatin ekspresyonu artmış hücrelerin oksijen-glukoz kısıtlaması sonrası daha uzun yaşadıkları gözlemlenmiştir (153). Zhang ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada ise visfatin geni silinmiş fareler kullanılarak visfatin'in serebral iskemide nöroprotektif rol oynadığı gösterilmiştir; yabancı farelere göre visfatin geni silinmiş farelerde dejeneratif nöronların daha yüksek düzeyde olduğu gözlemlenmiştir (214). Visfatin, nöronal apoptoz ve nekroz inhibisyonu aracılığı ile serebral iskemide endojen bir nöroprotektif ajan gibi davranmakta ve bu etkilerini SIRT-1 bağımlı adenosin monofosfat aktive edici protein kinaz (AMPK) yoluyla üzerinden gerçekleştirmektedir (153; 188).

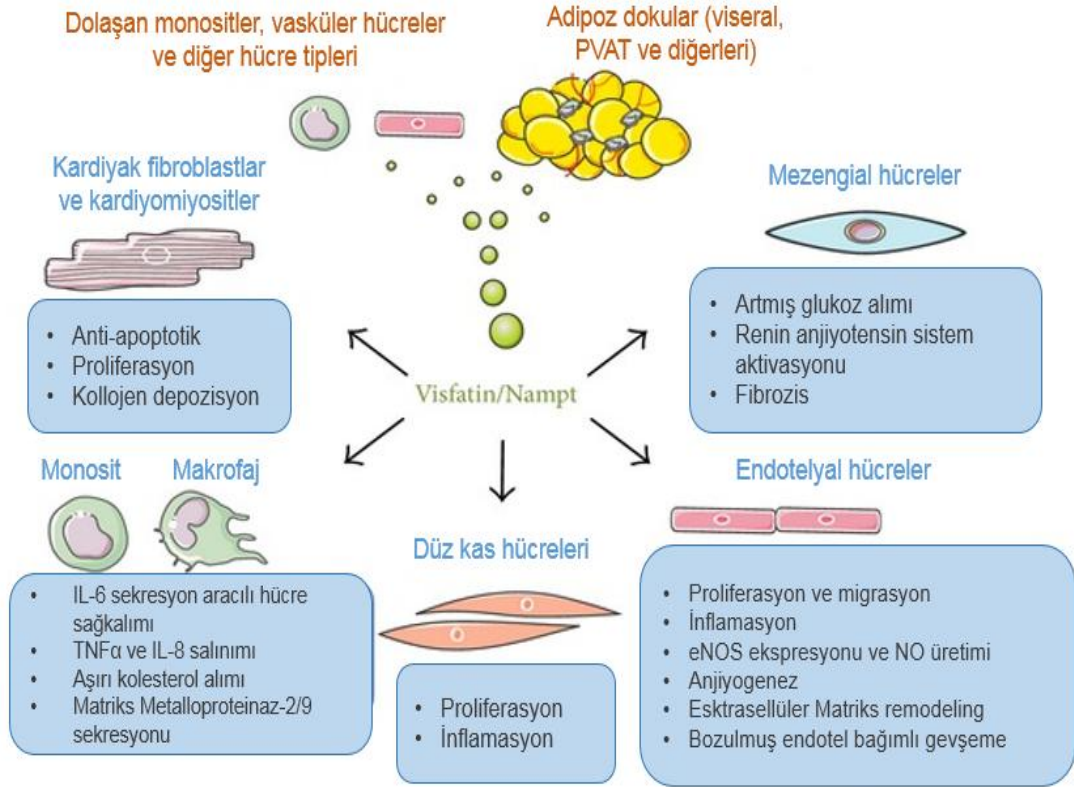
#### **2.2.12.15.Visfatin ve Polikistik Over Sendromu**

Polikistik over sendromlu (PCOS) kadınlarda, dolaşımdaki visfatin düzeylerinin arttığı bulunmuştur (215). PCOS'lu kadınların BMI ve visfatin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon gözlenirken, visfatin konsantrasyonlarıyla açlık plazma insülin düzeyleri ve yaş arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (215). Ancak, başka bir çalışmada, subkutan adipoz dokunun yanı sıra vasküler adipoz dokuda da plazma visfatin konsantrasyonları ve açlık plazma insülin, HOMA-IR ve visfatin mRNA ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğu, plazma visfatin düzeyleri ve BMI ya da bel-kalça oranı arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (216). Polikistik over sendromu olan hastalarda yapılan bir çalışmada, 3 ay metformin ile tedavi alan hastalar kontrol grubu ile kıyaslandığında visfatin

düzeylerinin azaldığı görülmüştür. Bu bulgular PCOS'unun patogenezinde visfatin'in rol oynayabileceğini düşündürmektedir (217).

### 2.2.12.16.Visfatin ve Kardiyovasküler Hastalık

Kardiyovasküler hastalıklar ve visfatin'in kardiyovasküler sistem üzerine direkt etkilerini inceleyen çalışma sayısının az olması ve bu çalışmalarda çelişkili sonuçların elde edilmesi, visfatin düzeyleri ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiyi belirlemek için daha fazla sayıda çalışma yapılmasını gerektirmektedir. Çalışmaların bir kısmında visfatin'in inflamasyonda rol oynadığı gösterilmiş, bazı diğer çalışmalarda ise potansiyel kardiyoprotektif özelliklere sahip olduğu ileri sürülmüştür (218) (Şekil 2.5).



**Şekil 2.5.** Kardiyovasküler sistem üzerinde visfatin/Nampt'in direkt etkileri. Bu şekil (218) nolu kaynaktan modifiye edilmiştir.

PVAT kaynaklı visfatin, vasküler düz kas hücre (VSMC) proliferasyonunu ERK  $\frac{1}{2}$  ve p38 sinyal yolları aracılığıyla uyarmaktadır (11). Visfatin'in, VSMC üzerinde sadece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşan apoptoz sırasında anti-apoptotik etkilere sahip olduğu ve bu etkilerin insülin reseptör sinyalinden bağımsız olarak oluştuğu bulunmuştur. Proliferasyon yollarının da visfatin aracılığı ile nikotinamid mononükleotid'in (NMN) biyosentezine aracılık ettiği bulunmuştur. Visfatin'in aşırı ekspresyonunun VSMC maturasyonunu

uyardığı ve düz kas hücrelerinin visfatin ile maturasyon için gerekli olan Nampt aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (169). Vasküler düz kas hücre (VSMC) proliferasyonu, aterosklerotik lezyon oluşumunun bir özelliğidir. Perivasküler visfatin, vasküler düz kas hücrelerde bir büyüme faktörü olarak davranmaktadır (11). Visfatin, direkt düz kas hücre proliferasyonunu uyararak aterosklerotik lezyonların oluşumunda ve progresyonunda rol oynamaktadır (218).

Anormal anjiyogenez hem koroner hem de karotid hastalıklarda aterojenik süreçlerin oluşmasının bir özelliği olarak düşünülmektedir (219). Visfatin bu bağlamda, insan umbilikal ven endotelial hücreleri (HUVEC)'inde konsantrasyon bağımlı bir tarzda endotelial hücre proliferasyonunu ve kapiller tüp oluşumunu uyarabilir (220). Visfatin'in bu proliferatif etkileri, VEGF olarak, endotelial proliferasyon ve yeni damar oluşumuna aracılık etmektedir (14). Visfatin VEGF reseptör 2 ekspresyonunu artırmanın yanı sıra VEGF sentezini ve sekresyonunu da artırmaktadır (202). VEGF'den başka, endotelial hücrelerdeki fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2), MCP-1 ve IL-6 gibi proanjiyogenik soluble faktörler de visfatini artırmaktadır (221). Hem MCP-1 hem de FGF-2 visfatin ile oluşan anjiyogenezin mediyatörleri olarak tanımlanmaktadır (222). Visfatin'in anjiyogenik aktiviteleri *in vitro* çalışmaların haricinde, hem *ex vivo* hem de *in vivo* deneylerde gösterilmiştir (15). Visfatin'in kardiyak iskemi ve reperfüzyon sırasında kardiyoprotektif etkilere sahip olduğu, reoksijenasyon sırasında uygulandığında kardiyomiyosit ölümünü azalttığı saptanmıştır. Visfatin'in bu etkileri PI3K ve Mitojen ekstrasellüler sinyalle düzenlenen kinaz/2 (MEK/2) yolları aracılığıyla gerçekleşmektedir (223).

DeneySEL hayvan modelleri ve insanlarda yapılan çalışmalarda visfatin'in aort ve koroner arter gibi damarların PVAT'ta bulunduğu (11; 13) ve vasküler sistemde çeşitli fonksiyonlar gösterdiği saptanmıştır. Visfatin ERK ½ ve p38 sinyalizasyon yolları aracılığı ile vasküler düz kas hücre büyümesini (11), PI3K/Akt ve ERK ½ aktivasyonu ile vasküler endotelial büyüme faktörü ve matris metalloproteinazları artırarak endotelial anjiyogenezini (14) stimüle eder. Nükleer faktör kappa-B-bağımlı mekanizmalar aracılığı ile ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adhezyon moleküllerini indükleyerek vasküler endotelial inflamasyona neden olabilir (224). Visfatin aynı zamanda direkt olarak da vasküler kontraktileti etkileyebilir ancak, hem visfatin'in vasküler tonusun düzenlenmesi üzerine direkt etkilerini gösteren bulgular da oldukça çelişkilidir, hem de *in vitro* çalışmalarda visfatin'in insan umbilikal veni ve koroner endotel hücrelerinde endotelial nitrik oksid (NO) sentaz (eNOS) ekspresyonu ve aktivitesini stimüle ederek NO üretiminde ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunda artmaya neden olduğu gösterilmiştir (16). Benzer şekilde, visfatin'in izole sıçan aortu ve mezenterik arterinde eNOS aktivasyonu ile gevşetici etki oluşturduğu bildirilmiştir (17). Bu bulgularla zıt olarak, T2DM (18) ve kronik böbrek yetmezliği (19) olan hastalarda brakiyal arterin akım aracılı gevşemesi (flow-mediated dilation; FMD) ile plazma visfatin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiş, renal transplantasyonu takiben dolaşımdaki visfatin düzeylerindeki azalma ile

birlikte FMD ile değerlendirilen endotel fonksiyon bozukluğunda düzelme olduğu saptanmıştır (20). Yakın zamanda gerçekleştirilen bir çalışmada ise visfatin'in insan ve sıçan mezenterik mikrodamarlarında Namp1 aktivitesi aracılığıyla endotel bağımlı gevşemelerde bozulmaya neden olduğu bildirilmiştir (21). Tüm bu çelişkili sonuçlar visfatin'in vasküler dokuda fonksiyonel etkilerinin ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmaların net bir Şekilde ortaya konulabilmesi için daha fazla çalışmaya gereksinim olduğuna işaret etmektedir.

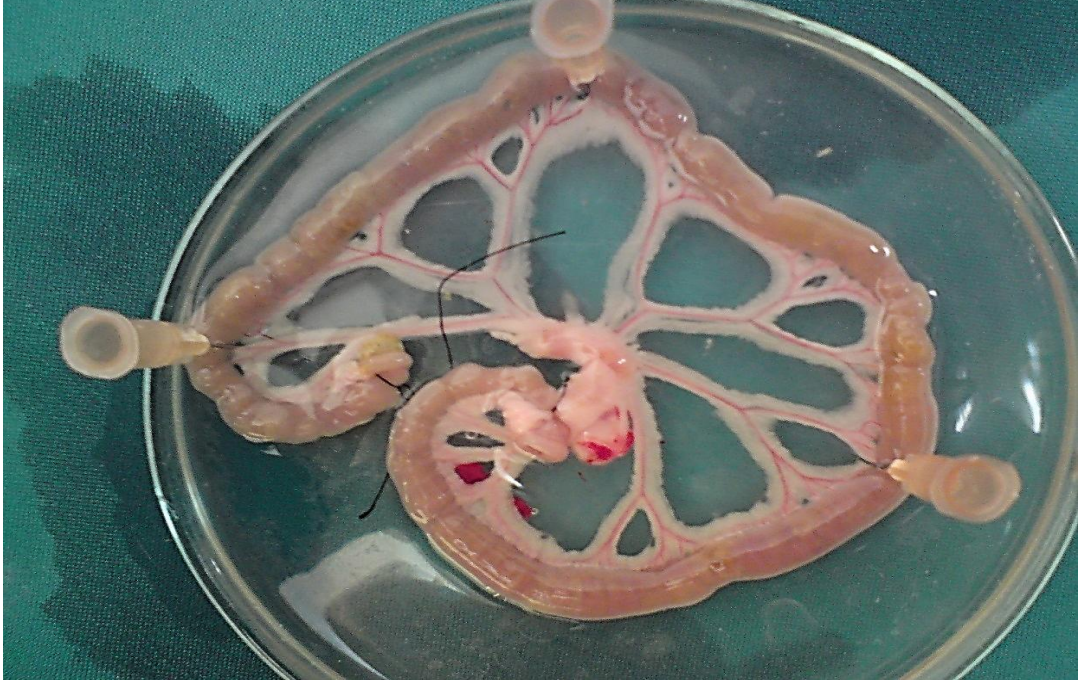
#### **2.2.12.17.Visfatin lm**

Plazma visfatin düzeyleri genellikle enzim bağlı immünosorbent (ELISA) yöntemi ile ölçülmektedir (225). Erkekler ve bayanlar arasında visfatin düzeylerinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Visfatin'in normal sınırı  $15.8 \pm 16.7$  ng/mL'dir (226).

## GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Sıçan İzole Mezenterik Yatağı Küçük Rezistans Arterlerinin Elde Edilişi ve Deney İçin Hazırlanışı

Deneyler 10-12 haftalık erkek Wistar sıçanlarda (200-400 gr) gerçekleştirildi. Deneylere başlayıncaya kadar sıçanlar sıcaklık ve ışık kontrollü ortamda barındırıldı, yiyecek ve su kısıtlaması uygulanmadı. İn vitro deneyler tel myografa gerçekleştirildi. Deney günü sıçanlara 1g/kg intraperitoneal ürethan anestezisi verildikten sonra abdominal bir kesi ile karın boşluğu açıldı, süperior mezenterik arterden ince barsak duvarına kadar uzanan mezenterik vasküler yatak izole edilerek soğuk fizyolojik tuz solüsyonu (PSS) (mM: NaCl 118, KCl 5, NaHCO<sub>3</sub> 25, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0, MgSO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5 ve glukoz 11.2) içeren petri kabına yerleştirildi (Şekil 3.1). Daha sonra hayvanlar biyokimyasal ölçümler için intrakardiyak kan örneklerinin alınımından sonra kardiyak insizyon ile sakrifiye edildi. Diseksiyon mikroskobu altında mezenterik vasküler yatağın 3. branşları çevre yağ ve bağ dokusundan temizlendikten sonra, yaklaşık 3 mm uzunluğunda küçük rezistans arter halkaları hazırlanarak PSS ile doldurulmuş tel myografa asıldı. Tel myografin banyo solüsyonunun ısısı 37°C olacak şekilde ayarlandı ve kontrol edildi. Solüsyon aynı zamanda pH'sı 7.4 olacak şekilde %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> gaz karışımı ile deney boyunca gazlandırıldı (Şekil 3.2). Daha sonra küçük rezistans arterler aktif gerilim gelişimi için çelik teller aracılığı ile radyal bir şekilde bir normalizasyon yazılımı aracılığı ile belirlenen "arterin iç çevresi / $\pi$ " değerine eşit olan optimal lümen çapına kadar getirildi. Bu normalize edilmiş etkin lümen çapı, damar gevşedikten sonra 100 mmHg transmural basınca maruz bırakıldığında oluşacak damar çapının %90'ına karşılık geleceği düşünülen değerdir (227). İzometrik gerilim bilgisayar bazlı bir data toplama sistemine bağlı izometrik transdüserler aracılığı ile kaydedildi. Deneylere 1 saatlik dinlenme periyodu sonrasında başlandı ve preparatlar deneyler arasında 20 dk. süreyle dinlendirildi ve yıkandı. İlaç konsantrasyonları banyo solüsyonunda oluşan molar konsantrasyonları olarak ifade edildi.



**Şekil 3.1.** Süperior mezenterik arterden ince barsak duvarına kadar uzanan mezenterik vasküler yatak



**Şekil 3.2.** Tel myograf sistemi



### 3.2. Tel Myografta İn Vitro Deneyler

Deneyler endoteli sağlam ve zedelenmiş mezenterik arter halkalarında gerçekleştirildi. Endoteli zedelenmiş halkalar elde etmek için, damar lümeninden geçirilen bir saç teli endotel tabakaya sürtüldü. Endotel sağlamlığı 1 saatlik dinlenme periyodu sonrasında submaksimal konsantrasyonda  $10^{-6}$  M fenilefrinle (PHE) kasılan dokuların  $10^{-6}$  M asetilkoline (ACh) gevşeme yanıtına bakılarak test edildi. ACh %60 ve üzeri gevşeme yanıtı veren dokuların endoteli sağlam, gevşeme yanıtı oluşmayan ya da %60'dan düşük gevşeme yanıtı oluşan dokuların endoteli ise zedeli kabul edildi.

Deneylerin ilk aşamasında mezenterik arter halkalarında visfatin'in ve deneylerde kullanılan maddelerin çözücülerinin bazal damar tonusu üzerindeki zamana bağımlı etkileri incelendi. Visfatin'in normal koşullarda ve çeşitli patolojik durumlarda plazma konsantrasyonları 0.05-0.25 nM aralığında bildirildiği (11) için izole organ banyosu çalışmalarında kullanılan visfatin konsantrasyonları normal plazma konsantrasyonları ile normalden düşük ve yüksek konsantrasyonları kapsayacak şekilde 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL olacak şekilde belirlendi ve bu konsantrasyonlarda visfatin kümülatif olarak ya da inkübasyon deneylerinde etkinliği saptanan konsantrasyon/lar ayrı ayrı uygulanarak kullanıldı.

Deneylerin ikinci aşamasında mezenterik arter halkalarında noradrenalin (NA,  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) ile konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edildi. Daha sonra arteriyel halkalar 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübe edildikten sonra NA konsantrasyon-yanıt eğrileri tekrar oluşturuldu.

Deneylerin üçüncü aşamasında visfatin'in endotel bağımlı gevşemeler üzerindeki etkisi incelendi. Submaksimal konsantrasyonda PHE ile ön kasılma oluşturulan mezenterik arter halkalarında ACh ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) ve endotel-bağımsız gevşeme oluşturan sodyum nitroprussid (SNP,  $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) konsantrasyon-yanıt eğrileri 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesinde ve sonrasında oluşturuldu.

Visfatin, sıçan izole mezenterik arter halkalarında ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde anlamlı derecede inhibisyon yaptığı için deneylerin dördüncü aşamasında visfatin'in, ACh ile oluşan gevşeme mekanizmalarından hangi mekanizmayı etkilediği belirlendi. Bu amaçla PHE ile önkasılma oluşturulan mezenterik arter halkalarının, yapısal ve indüklenebilir nitrik oksid sentaz (NOS) izoformlarının blokörü olan N $\omega$ - nitro-L-arginin metilester (L-NAME,  $10^{-4}$  M) ile 20 dk, siklooksijenaz inhibitörü indometazin (İNDO;  $10^{-5}$  M) ile 20 dk ve bu iki ajanın kombinasyonları ile 20 dk. ve L-NAME + İNDO + VISFATİN (100 ng/mL) kombinasyonu ile 20 dk. inkübasyonu öncesinde ve sonrasında ACh'ye konsantrasyon-yanıt eğrileri kaydedildi ve bu şekilde visfatin'in damar düz kas tonusu üzerindeki fonksiyonel etkilerinde NO ve siklooksijenaz ürünlerinin rolü belirlendi. Visfatin'in fonksiyonel etkilerinin gözlemlendiği deneyler, etkinin visfatine

spesifikliğini test etmek için Nampt inhibitörü FK866 (10 µM) ile 20 dakika inkübasyon sonrasında tekrarlanarak karşılaştırıldı.

Visfatin'in ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerindeki inhibitör etkisinde serbest oksijen radikallerinin rolünü incelemek için PHE ile kasılan damar halkalarının ACh'ya gevşeme yanıtları visfatin (15 ng/mL ve 35 ng/mL) ve serbest oksidan radikal süpürücüsü süperoksid dismutaz (SOD, 100 U/ml) ile 20 dk. inkübasyon sonrasında belirlendi.

Deneyler arasında dokular 60 dk. dinlendirildi. Her bir deney grubu en az 6 mezenterik arter halkasında gerçekleştirildi.

### **3.3. Mezenterik Perivasküler Yağ Dokusu ve Plazma Visfatin Düzeyleri Ölçümleri**

Hayvanların deney günü sakrifikasyonu sırasında elde edilen kan örnekleri etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren Lavender vacutainer tüplere alındı, 30 dk. içerisinde santrifüj edildi ve plazmaları ayrılarak -80°C'de ölçüm gününe kadar saklandı. Yine sakrifikasyon sonrasında hayvanların mezenterik PVAT diseke edilerek izole edildi, çalışma gününe kadar sıvı nitrojende saklandı.

Mezenterik PVAT'de protein ekstraksiyonu için donmuş yağ dokusu örnekleri buz üzerine yerleştirildi ve örneklerden 200 mg eksizyon yapıldı. Bu şekilde alınan doku 200 µl PBS'de (0.01 mol/L; pH: 7.4) çözüldü ve ultrasonik homojenizatörde homojenize edildi (30 s, 4°C, pulse on 3 s, pulse off 5 s). Yağ dokusu homojenatları bir gece süresince -80°C'de tutuldu, ertesi gün buz üzerinde eritildi. İki donma-erime döngüsü sonrasında homojenatlar 15000 rpm'de 30 dk. santrifüj edildi ve orta tabaka ölçüm için kullanıldı (Şekil 3.3).

Plazma ve perivasküler yağ dokusunda visfatin düzeyleri ticari bir kit kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü ve proteine oranlandı. Doku proteini Lowry metodu ile ölçüldü. Plazma total protein düzeyleri ise spektrofotometrik yöntemlerle üniversitemizin merkez laboratuvarında ölçüldü.



**Şekil 3.3.** Yağ dokusu homojenatı

#### **3.4. Deneyleerde Kullanılan İlaçlar**

Deneyleerde kullanılan Visfatin, FK866, PHE, ACh, L-NAME, İNDO, NA, SNP ve SOD Sigma Kimyasal'dan (St. Louis, Mo.) elde edildi. Visfatin, FK866, PHE, ACh, L-NAME, NA, SNP ve SOD distile suda, İNDO etanolde çözüldü.

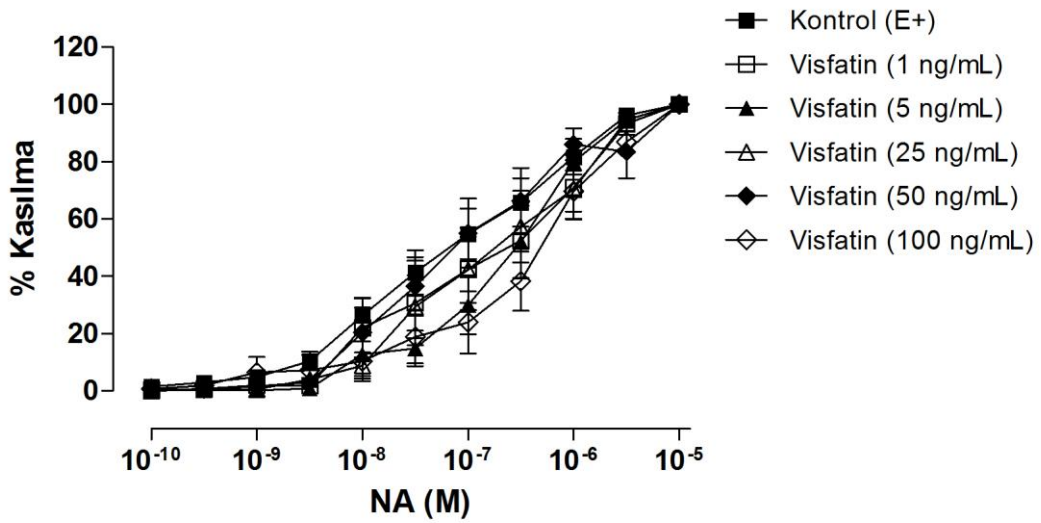
#### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Tüm değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edildi.  $EC_{50}$  değerleri lineer regresyon analizi ile maksimum yanıtın ( $E_{max}$ ) %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonu olarak hesaplandı. Duyarlılık  $pD_2$  (-Log  $EC_{50}$ ) olarak verildi. Sonuçların istatistiksel analizi Student t-testi, tekrarlayan ölçümler için ANOVA ve posthoc Tukey testleri kullanılarak yapıldı. Plazma visfatin düzeyleri ve PVAT'taki visfatin ölçümleri arasındaki ilişki Pearson Korelasyon Analizi ile gerçekleştirildi. p değerleri 0,05'in altında bulunan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

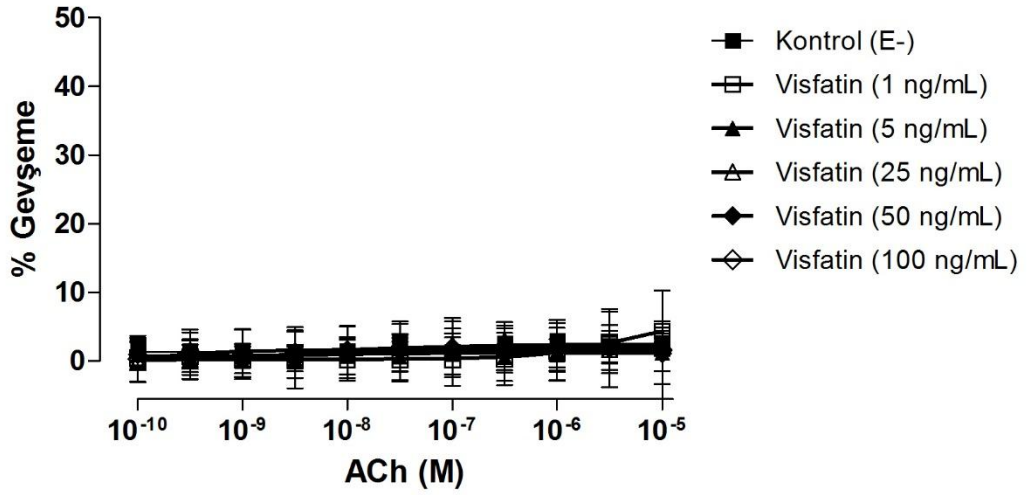
Ön-deneylerde çözücülerinin damar yanıtlarında kendi başlarına uygulandıklarında anlamlı bir değişiklik oluşturmadıkları saptandı. Ayrıca visfatin ile deneylerde kullanılan diğer kimyasalların damarların bazal tonusu üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadıkları belirlendi. Bu nedenle PHE ile ön-kasılma oluşturulan deneylerde kullanılan PHE konsantrasyonları için ek bir standardizasyon işlemine başvurulmadı.

Ayrı ayrı 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübe edilen endoteli sağlam mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonda ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) uygulanan NA ile oluşturulan kasılma yanıtları visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermedi (Şekil 4.1).



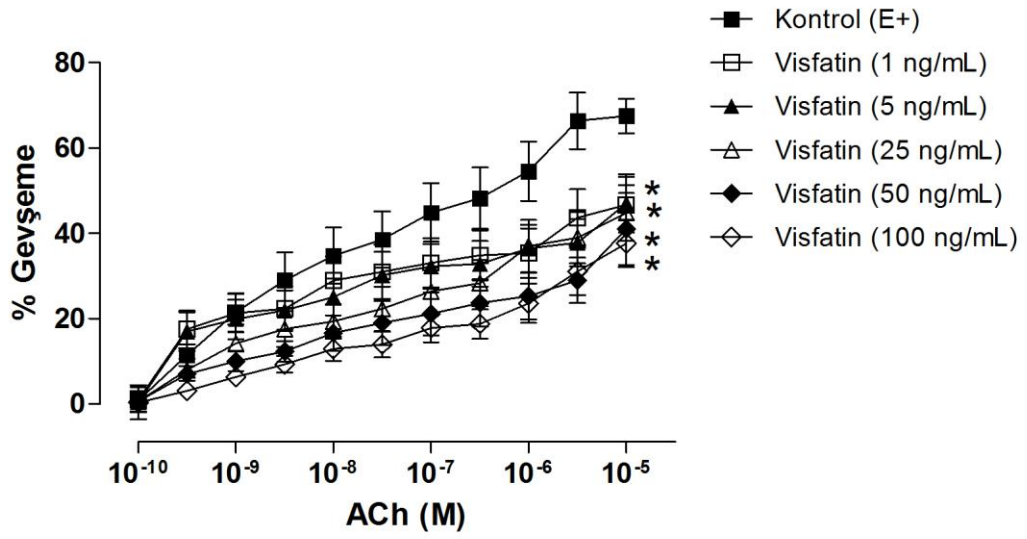
**Şekil 4.1.** Endoteli sağlam sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtları üzerine değişik konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonunun (30 dk.) etkisi (n=9-26). Sonuçlar 40 mM KCl ile oluşan maksimum kasılmanın %'si olarak verilmiştir.

Ayrı ayrı 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi ve sonrasında endoteli zedeli mezenterik arter halkalarında ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) gevşeme yanıtı oluşturmadı (Şekil 4.2). Bu nedenle bu aşamadan sonraki deneylerde endoteli sağlam mezenterik arter halkaları kullanıldı.

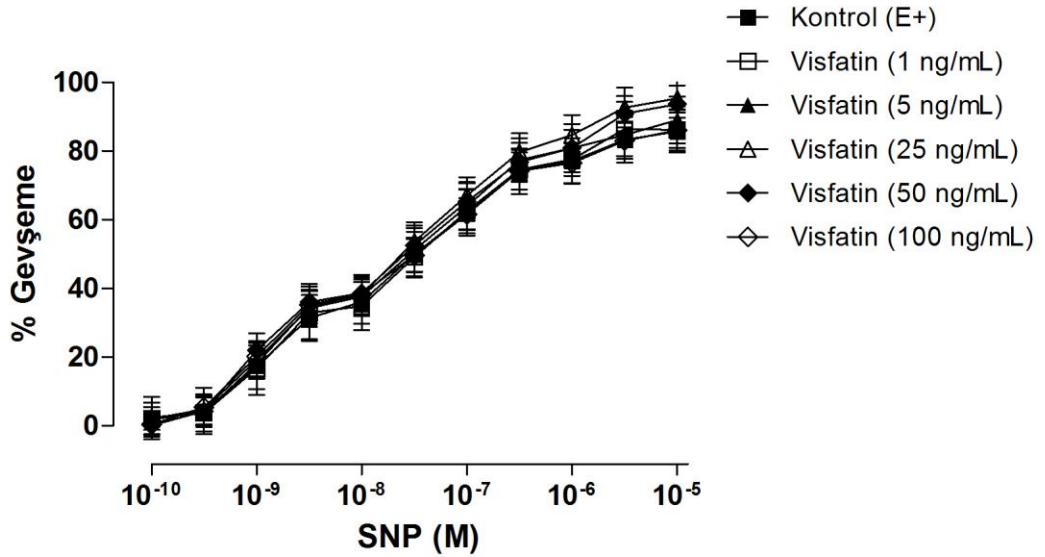


**Şekil 4.2.** Endoteli zedeli (E-) sıçan mezenterik arter halkalarının kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) uygulanan ACh'ya yanıtı ve farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi (n=6, tüm gruplar için). Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Ayrı ayrı 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübe edilen endoteli sağlam sıçan mezenterik arter halkalarında ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları, 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin inkübasyonları ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı. ACh'ye maksimal gevşeme yanıtlarında visfatin ile oluşan inhibisyonun konsantrasyon-bağımlı olduğu ve özellikle yüksek konsantrasyonlarda inhibisyona ACh'ye damar duyarlığında bir artmanın eşlik ettiği gözlemlendi (Şekil 4.3) (Çizelge 4.1). Diğer taraftan PHE ( $10^{-6}$  M) ile ön kasılma oluşturulan sıçan mezenterik arter halkalarında endotel-bağımsız gevşetici ajan olan SNP'ye ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) gevşeme yanıtları 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermedi (Şekil 4.4) (Çizelge 4.1).



**Şekil 4.3.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi (n=7-9). \*:  $p < 0.05$ , kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.



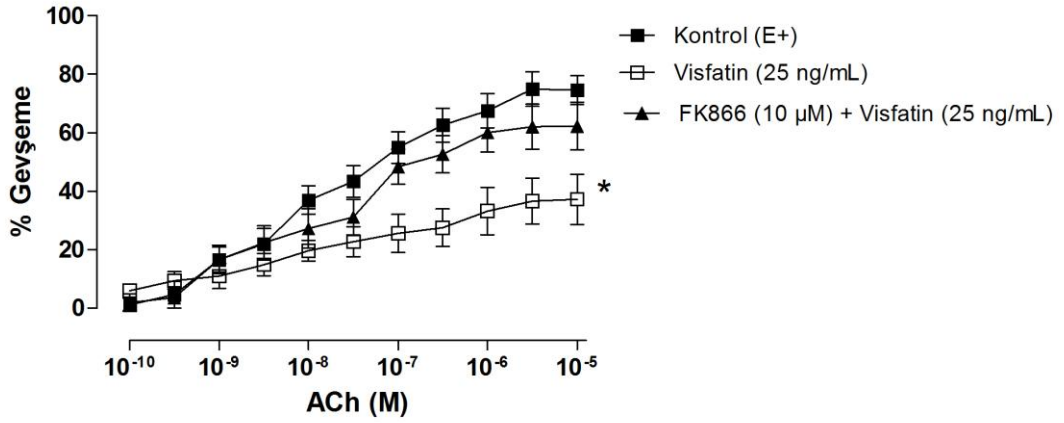
**Şekil 4.4.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) uygulanan SNP ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) uygulanan visfatin inkübasyonlarının (30 dk.) etkisi (n=9, tüm gruplar için). Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Fenilefrin ile ön-kasılma oluşturulan sıçan mezenterik rezistans arter halkalarında farklı (1, 5, 25, 50, 100 ng/mL) konsantrasyonlarda visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi (kontrol) ve sonrasında ACh ve SNP için E<sub>max</sub> (%) ve pD<sub>2</sub> değerleri.

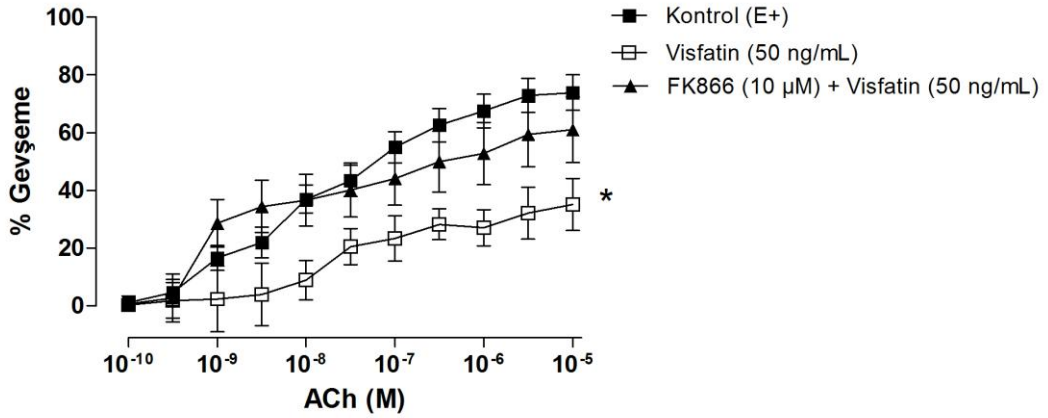
	ACh		SNP	
	E <sub>max</sub> (%)	pD <sub>2</sub>	E <sub>max</sub> (%)	pD <sub>2</sub>
Kontrol	67.49±4.02	7.95±0.21	85.73±6.13	7.75±0.14
Visfatin 1 ng/mL	46.72±6.55 <sup>a</sup>	8.59±0.33	86.17±5.94	7.69±0.14
Visfatin 5 ng/mL	47.02±6.81 <sup>a</sup>	8.39±0.32	88.98±6.80	7.74±0.13
Visfatin 25 ng/mL	44.79±6.50 <sup>a</sup>	7.45±0.27	95.27±5.50	7.68±0.11
Visfatin 50 ng/mL	41.05±8.40 <sup>a</sup>	7.20±0.32	93.70±5.45	7.72±0.12
Visfatin 100 ng/mL	37.66±5.53 <sup>a</sup>	6.47±0.22 <sup>a</sup>	86.10±5.20	7.82±0.11

<sup>a</sup>: P<0.05, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

Damar preparatlarının ACh'ye ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin inkübasyonları ile gözlenen inhibisyon, Nampt inhibitörü FK866 (10  $\mu$ M) ile 20 dk. inkübasyon sonrasında büyük ölçüde geriye döndü (E<sub>max</sub>: %74.55 ± 4.95 vs. %37.22 ± 8.56 vs.%62.29 ± 8.16, sırasıyla kontrol, 25 ng/mL visfatin ile inkübasyon, FK866 (10  $\mu$ M) + 25 ng/mL visfatin ile inkübasyon durumunda, p<0.05; E<sub>max</sub>: %73.85 ± 6.15 vs. %35.11 ± 8.98 vs.%61.05 ± 11.33, sırasıyla kontrol, 50 ng/mL visfatin ile inkübasyon, FK866 (10  $\mu$ M) + 50 ng/mL visfatin ile inkübasyon durumunda, p<0.05; E<sub>max</sub>: %73.53 ± 7.45 vs. %34.66 ± 6.93 vs.%68.75 ± 13.45, sırasıyla kontrol, 100 ng/mL visfatin ile inkübasyon, FK866 (10  $\mu$ M) + 100 ng/mL visfatin ile inkübasyon durumunda, p<0.05) (Şekil 4.5, 4.6, 4.7).

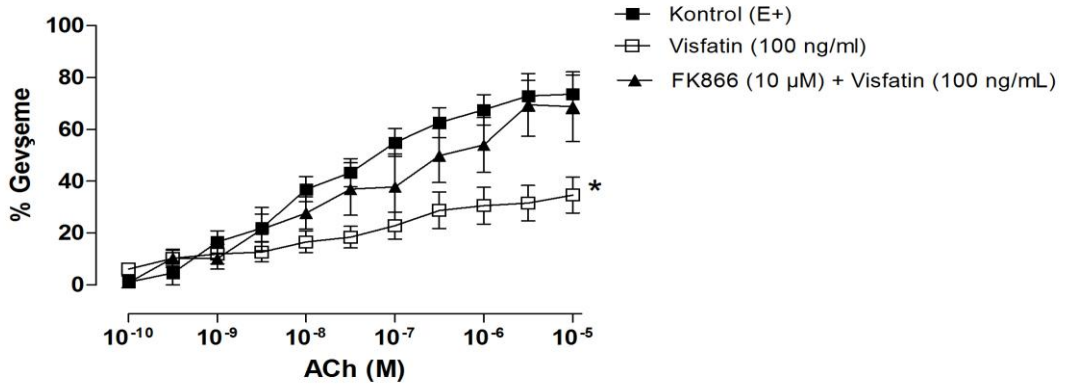


**Şekil 4.5.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde visfatin (25 ng/mL, 30 dk.) ve FK866 (10 µM) + visfatin (25 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonunun etkisi (n=6-8). \*:  $p<0.05$ , kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.



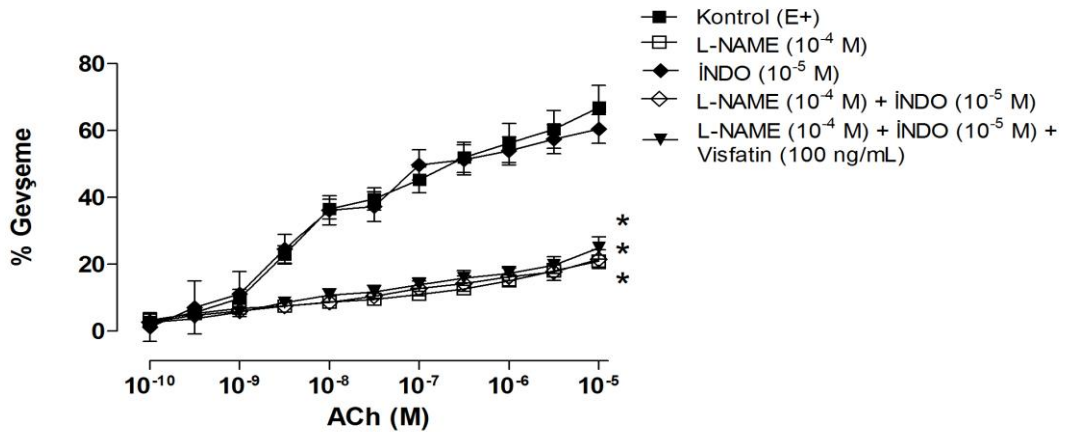
**Şekil 4.6.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde visfatin (50 ng/mL, 30 dk.) ve FK866 (10 µM) + visfatin (50 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonunun etkisi (n=6-8). \*:  $p<0.05$ , kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.





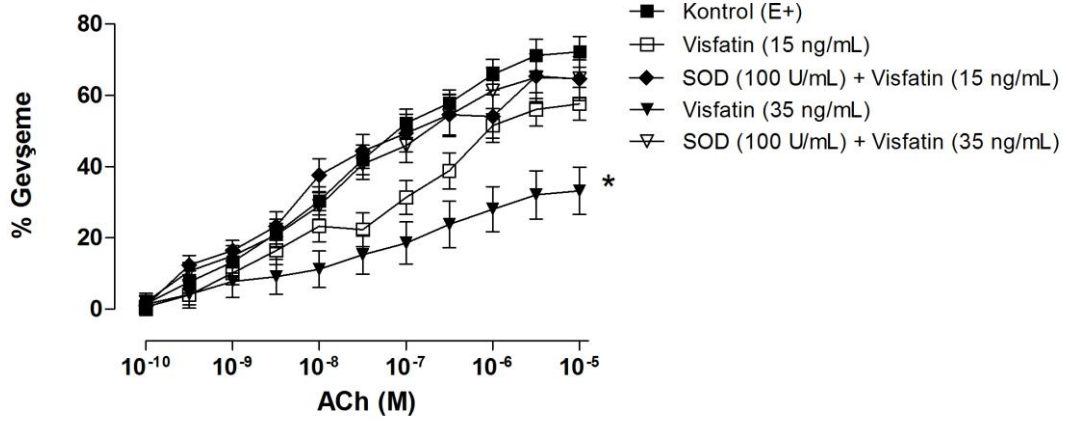
**Şekil 4.7.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde visfatin (100 ng/mL, 30 dk.) ve FK866 (10 µM) + visfatin (100 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonunun etkisi (n=6-8). \*: p<0.05, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Endoteli sağlam sıçan izole mezenterik arterlerinde ACh ile oluşan gevşeme yanıtları İNDO inkübasyonu sonrası anlamlı olarak değişmedi. Diğer taraftan damar preparatlarının NOS blokörü L-NAME ile inkübasyonu ACh'ya gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalmaya (yaklaşık %70) neden oldu ( $E_{max}$ : %66.94 ± 6.55 vs. %21.00 ± 1.22, sırasıyla kontrol ve L-NAME ile inkübasyon sonrasında, P<0.05). Sıçan mezenterik vasküler yatak izole rezistans arterlerinin ACh'ya gevşeme yanıtlarında visfatin (100 ng/mL) ile oluşan azalmanın ACh'ya gevşeme yanıtının L-NAME'ye duyarlı olan komponentinin blokajı ile benzer olduğu saptandı (Şekil 4.8).



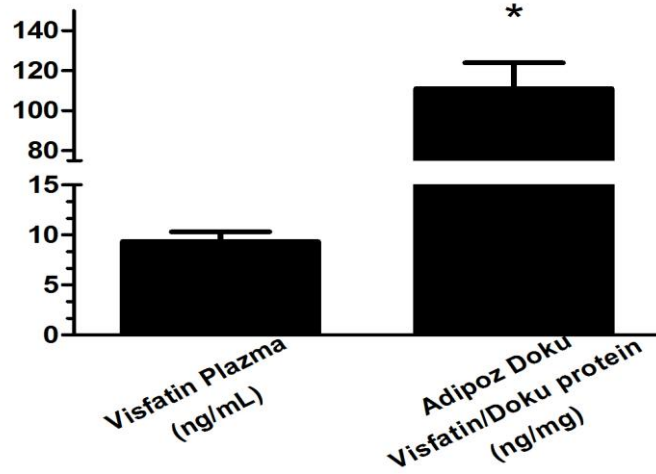
**Şekil 4.8.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerinde L-NAME ( $10^{-4}$  M, 20 dk.), İNDO ( $10^{-5}$  M, 20 dk.), L-NAME + İNDO (sırasıyla  $10^{-4}$  M,  $10^{-5}$  M; 20 dk.), L-NAME + İNDO + Visfatin (sırasıyla  $10^{-4}$  M,  $10^{-5}$  M, 100 ng/mL; 20 dk.) inkübasyonlarının etkisi (n=12, tüm gruplar için). \*: p<0.05, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

İzole arter preparatlarının SOD (100 U/ml) ile 30 dk. inkübasyonu ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerinde 15 ve 35 ng/mL visfatin'in oluşturduğu azalmayı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde geri döndürdü ( $E_{max}$ : %72.2 ± 4.26 vs. %57.56± 4.60 vs. %64.58 ± 5.26 vs. %33.19 ± 6.62 vs. %64.68 ± 6.16, sırasıyla kontrol; 15 ng/mL visfatin; SOD (100 U/ml) +15 ng/mL visfatin; 35 ng/mL visfatin; ve SOD (100 U/ml) + 35 ng/mL visfatin ile inkübasyon durumlarında,  $p<0.05$ ) (Şekil 4.9).



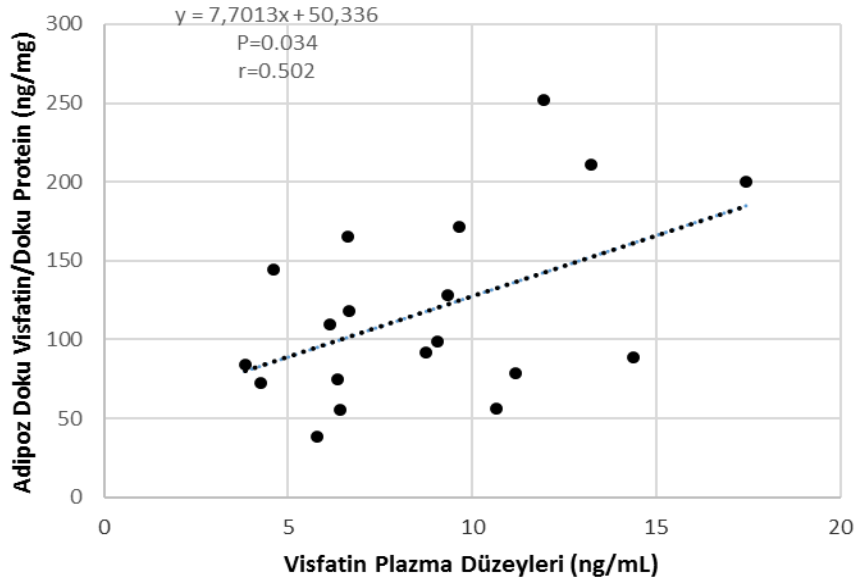
**Şekil 4.9.** Endoteli sağlam (E+) sıçan mezenterik arter halkalarında kümülatif ( $10^{-10}$  -  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarda uygulanan ACh ile oluşan gevşeme yanıtları üzerine farklı iki konsantrasyonda (15 ng/mL, 30 dk. ve 35 ng/mL, 30 dk.) uygulanan visfatin, SOD (100 U/ml) + visfatin (15 ng/mL, 30 dk.) ve SOD (100 U/ml) + visfatin (35 ng/mL, 30 dk.) inkübasyonlarının etkisi (n=6-8). \*:  $p<0.05$ , kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Sonuçlar PHE ile oluşan kasılmanın % gevşemesi olarak verilmiştir.

Sıçanların plazma ve mezenterik perivasküler yağ dokusundaki ortalama visfatin düzeyleri sırasıyla  $8.75 \pm 0.81$  ng/mL (n=19) ve  $117.75 \pm 12.47$  ng/mg (n=19) olarak bulundu. Sıçan mezenterik perivasküler yağ dokusundaki visfatin düzeyleri, plazma visfatin düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti ( $p<0.01$ ) (Şekil 4.10).



**Şekil 4.10.** Sıçanlardan alınan plazma (n=19) ve mezenterik perivasküler yağ dokusunda (n=19) visfatin düzeyleri (\*: p<0.01, serum düzeyleri ile karşılaştırıldığında).

Plazma ve mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeyleri arasında anlamlı bir pozitif korelasyon saptandı (r= 0.485, P= 0.035). Doku proteinine oranlanan mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeylerinin, vücut ağırlığına göre oranlanarak düzeltilmesi durumunda da plazma visfatin düzeyleri ile anlamlı bir pozitif korelasyonun olduğu gözlemlendi (r= 0.502, P=0.034) (Şekil 4.11).



**Şekil 4.11.** Sıçanlarda plazma ve mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeyleri arasındaki ilişki (n=19).

## TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında sıçan mezenterik vasküler yatağından izole edilen küçük rezistans arterlerde visfatin'in fonksiyonel etkileri ve bu etkilerde rol oynayan mekanizmalar araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda çalışmada visfatin'in damar preparatlarının bazal tonusu, NA'ya kasılma, ACh ve SNP'ye gevşeme yanıtları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Visfatin'in izole mezenterik rezistans arter preparatlarında fonksiyonel etkilerinde Nampt enzim aktivitesinin, endotel dokusunun ve süperoksid radikallerinin rolü değerlendirilmiştir. Ayrıca sıçanlarda plazma ve mezenterik perivasküler adipoz doku visfatin düzeyleri ölçülmüş ve bu iki parametre arasında bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir.

Çalışmamızda visfatin'in ve deneylerde kullanılan diğer maddelerin çözücülerinin sıçan mezenterik rezistans arter halkalarının bazal tonusu üzerinde anlamlı bir etkilerinin olmadığı saptanmıştır. Ön deneylerde submaksimal konsantrasyonda uygulanan NA'nın, sıçan izole mezenterik rezistans arter halkalarında stabil, tekrarlanabilir ve sürekli bir kasılma yanıtı oluşturduğu ve NA ile oluşan kasılma yanıtlarında zaman içerisinde anlamlı bir azalma gözlenmediği teyid edilmiştir.

Endoteli sağlam mezenterik rezistans arter halkalarının 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübasyonu, kümülatif konsantrasyonda ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) uygulanan NA ile oluşturulan kasılma yanıtları üzerinde de anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil 4.1). Visfatin'in insanlardaki plazma konsantrasyonu 0.05 - 0.25 nM aralığındadır (11). İnkübasyon için seçilen visfatin konsantrasyonları hem normal değerleri hem de normalin altında ve üstünde kalan değerleri kapsayacak aralıkta seçilmiştir. Çalışmamızda visfatin'in sıçan izole mezenterik rezistans arter preparatlarında, gerek insanlarda bildirilen ortalama plazma konsantrasyonlarına karşılık gelen gerekse bundan çok daha yüksek konsantrasyonlarda, endojen olarak mevcut bir vazokonstriktör ajanla oluşan kasılma yanıtını in vitro koşullarda anlamlı olarak değiştirmedeği bulunmuştur. Bu bulgu ile uyumlu olarak Vallejo ve ark.'ları (21) sıçan mezenterik arterlerinde kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-5}$  M) uygulanan NA ile oluşan kasılma yanıtlarının, 50 ve 100 ng/mL visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında anlamlı bir değişiklik göstermediğini bildirmişlerdir. Öte yandan, sıçan izole torasik aortunda gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, bu bulgularla ters olarak, endoteli sağlam izole torasik aort preparatlarının kümülatif konsantrasyonlarda ( $10^{-9}$  -  $10^{-6}$  M) NA'ya kasılma yanıtlarının 100 ng/mL visfatin inkübasyonu ile anlamlı olarak azaldığı, endoteli zedeli preparatlarda ise bu tür bir değişikliğin gözlenmediği rapor edilmiştir (17).

ACh ve SNP, NO-aracılı soluble guanilat siklaz aktivasyonu ve bunu takibeden cGMP üretimindeki artma sonucu vasküler düz kaslarda gevşeme yanıtına yol açan ajanlardır. Ancak SNP direkt NO donörü olarak rol oynarken, ACh, NOS aktivasyonu aracılığıyla endotel hücrelerinden NO salınımına yol açmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada izole rezistans arterlerde visfatin'in endotel-bağımlı (ACh ile oluşan) ve endotel-bağımsız (SNP ile oluşan) gevşemeler üzerindeki etkileri de incelenmiştir. PHE ile ön-kasılma oluşturulan sıçan mezenterik arter halkalarının düşük, normal ve yüksek konsantrasyonlarda (1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL) visfatin ile 30 dk. süreyle inkübasyonu endotel sağ damar halkalarında ACh'nin kümülatif konsantrasyonlarına ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) gelişen gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.3). Endoteli sağlam damar halkalarının değişik konsantrasyonlarda visfatin ile inkübasyonu ACh'ya maksimum gevşeme yanıtlarında %35-45 düzeylerinde bir azalmaya neden olmuştur. ACh'ya gevşeme yanıtlarında visfatin'in oluşturduğu inhibitör etki konsantrasyon bağımlı bir eğilim göstermesine karşın, farklı konsantrasyonlarla oluşan maksimum inhibisyon ( $E_{max}$ ) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Diğer taraftan 1, 5, 25 ve 50 ng/mL visfatin inkübasyonlarının izole mezenterik arter halkalarının ACh'ya duyarlığında anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı ancak 100 ng/mL visfatin ile inkübasyon sonucu rezistans arterlerin ACh'nin gevşetici etkisine duyarlığında anlamlı bir azalma olduğu saptanmıştır ( $pD_2$  değerleri sırasıyla:  $7.95 \pm 0.21$  ve  $6.47 \pm 0.22$ ,  $P < 0.05$ ) (Şekil 4.3, Çizelge 4.1). Diğer taraftan çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda visfatin (1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL), izole sıçan mezenterik arter halkalarının SNP'ye gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Şekil 4.4, Çizelge 4.1). Dolayısıyla visfatin'in direkt NO donörü ile oluşan endotel bağımsız gevşeme yanıtları üzerinde etkisinin olmadığı, yüksek konsantrasyonlarında ise olasılıkla NO üretimi/salınımı ve/veya biyoyararlanımı üzerindeki etkisi ile endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını azalttığı anlaşılmaktadır.

Visfatin'in vasküler fonksiyonel etkilerini belirlemeye yönelik olarak yapılan az sayıda çalışmadan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılığın nedeni/nedenleri bilinmemekle birlikte vasküler düz kasların çeşitli ajanlara yanıtlarındaki değişikliklerde arterin lokalizasyonu ve çapına bağlı olarak endotelden salınan maddelerdeki farklılıkların, iyon transport mekanizmaları veya farmakolojik reseptörlerin yoğunluğu ve tiplerinin önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (228; 229). Bu nedenle visfatin'in çeşitli türlerden elde edilen değişik damar preparatlarında vasküler fonksiyonel etkilerindeki farklılıkların, dokunun alındığı tür, deneyin gerçekleştirildiği vasküler doku (damar dokusunun yeri ve çapı) ve/veya ön kasılma oluşturmak için kullanılan ajan gibi yöntemsel farklılıklara bağlı olabileceği düşünülebilir. Visfatin'in NA'ya kasılma yanıtları üzerinde etkili olduğu bildirilen torasik aort preparatı, kondüktans arterleri temsil etmektedir ve rezistans arterlere göre çok daha büyük bir çapa sahiptir. Diğer taraftan gerek bu çalışmada gerekse bu çalışma ile benzer sonuçların gösterildiği Vallejo ve ark.'larının (21) çalışmasında kondüktans damarlardan farklı fonksiyonlara aracılık eden ve

çok daha küçük damar çaplarına sahip olan izole mezenterik rezistans arterler kullanılmıştır.

Sıçan izole mezenterik rezistans arter preparatlarında visfatin'in fonksiyonel etkisinde rol oynayan mekanizmaları belirlemeye yönelik çalışmamızda, endoteli sağlam damar preparatlarının 20 dk. süreyle siklooksijenaz inhibitörü İNDO ( $10^{-5}$  M) ile inkübasyonu ACh'ya gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişiklik oluşturmamış, diğer taraftan İNDO ( $10^{-5}$  M) ve NOS blokörü L-NAME ( $10^{-4}$  M, 20 dk.) kombinasyonu ile inkübasyon ACh'ya gevşeme yanıtlarında yaklaşık %70'lik bir azalmayla sonuçlanmıştır. Bu bulgular ACh'nin sıçan mezenterik rezistans arterlerinde gevşetici etkisinde lokal olarak üretilen siklooksijenaz ürünlerinin rolü olmadığına ve gevşemeden temel olarak endotel kaynaklı NO'nun sorumlu olduğuna işaret etmektedir. Diğer taraftan ACh'ye gevşeme yanıtında visfatin ile oluşan inhibisyonun, aynı dokuda L-NAME ve İNDO'nun kombine etkisi ile oluşan inhibisyonla aynı düzeyde olduğu saptanmıştır. L-NAME ve İNDO kombinasyonuna eklenen en yüksek konsantrasyondaki visfatin (100 ng/mL), ACh'ya gevşeme yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı ek bir inhibisyon oluşturmamıştır (Şekil 4.8). Endoteli sağlam sıçan mezenterik rezistans arterlerinde ACh'ya gevşeme yanıtlarında visfatin ile gözlenen inhibisyonun NOS blokörü L-NAME ile gözlenen blokaj ile aynı düzeyde olması ve İNDO ve L-NAME kombinasyonuna eklenen visfatin ile gevşeme yanıtları üzerinde ek bir inhibisyon oluşmaması, visfatin'in endotel bağımlı gevşeme üzerindeki inhibitör etkisini endotel kaynaklı NO üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir. Bu bulgularla uyumlu olarak T2DM (18) ve kronik böbrek yetmezliği (19) olan hastalarda brakial arterin akım aracılı gevşemesi ile plazma visfatin düzeyleri arasında negatif bir korelasyon olduğu gösterilmiş, bu hastalarda renal transplantasyonu takiben dolaşımdaki visfatin düzeylerindeki azalmaya akım aracılı gevşeme ile değerlendirilen endotel fonksiyon bozukluğundaki düzelmelerin eşlik ettiği bildirilmiştir (20). Başka bir çalışmada ise visfatin'in insan ve sıçan mezenterik mikrodamarlarında endotel bağımlı gevşemelerde bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir (21). Zıt olarak, visfatin'in endoteli sağlam sıçan torasik aort halkalarında eNOS ve Akt fosforilasyonunu düzenleyerek NO aracılı gevşeme yanıtları oluşturduğu (17), insan umbilikal veni ve koroner endotel hücre kültürlerinde eNOS ekspresyonu ve aktivitesini stimüle ederek NO üretiminde ve cGMP oluşumunda artmaya neden olduğu bildirilmiştir (16).

Visfatin, NAD sentezinde rol oynayan Nampt enzimiyle yapısal benzerlik gösterdiği için, aynı zamanda "Nampt" olarak da adlandırılmaktadır (5; 22). Nampt enzim aktivitesinin visfatin'in, vasküler düz kas hücre proliferasyonu ve inflamasyonu, makrofajlardan matriks metalloproteinazların üretimi ve pankreatik  $\beta$ -hücrelerinden insülin salınımı gibi değişik etkilerine aracılık ettiği gösterilmiştir (11; 154; 230; 231). Visfatin'in etkilerine aracılık eden reseptör/reseptörler halen bilinmemekte ve visfatin'in insülin reseptörüne insülinin bağlandığı bölgeden farklı bir bölge üzerinden bağlanabileceği ve reseptörü aktive edebileceği bildirilmiştir (6). Sonraki çalışmalarda ise bu görüşle zıt bulgular da elde edilmiştir (10; 211; 231).

Visfatin'in sıçan aortunda oluşturduğu gevşeme yanıtı insülin reseptöründen bağımsız bir şekilde gerçekleştiği bildirilmiştir (17). Bu çalışmada endoteli sağlam sıçan mezenterik rezistans arter halkalarında ACh'ya gevşeme yanıtlarında visfatin ile oluşan inhibisyonun Nampt enzim inhibitörü olan FK866 varlığında neredeyse tamamen bloke edildiği gösterilmiştir ( $E_{max}$ :  $\%74.55 \pm 4.95$ ). Bu bulgu, sıçan mezenterik rezistans arter halkalarında visfatin'in endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerindeki inhibitör etkisinde visfatin'in Nampt enzim aktivitesinin rolü olduğuna işaret etmektedir. Visfatin'in insan ve sıçan mezenterik mikrodamarlarında endotel bağımlı gevşemeler üzerindeki olumsuz etkilerinde Nampt aktivitesinin rolü başka çalışmalarla da desteklenmektedir (21).

Çalışmamızda sıçan izole mezenterik arter preparatlarının bir serbest radikal giderici olan SOD (100 U/ml) ile 30 dk. inkübasyonu, gerek 15 ng/mL ( $E_{max}$ :  $\%57.56 \pm 4.60$ ) gerekse 35 ng/mL ( $E_{max}$ :  $\%33.19 \pm 6.62$ ) visfatin'in ACh ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerinde oluşturduğu blokör etkiyi ( $E_{max}$ :  $\%57.56 \pm 4.60$ ) ve nerdeyse tamamen (15 ve 35 ng/mL için sırasıyla  $E_{max}$ :  $\%64.58 \pm 5.26$  ve  $\%64.68 \pm 6.16$ ) kontrol düzeylerine ( $E_{max}$ :  $\%72.2 \pm 4.26$ ) geri döndürdüğü saptanmıştır. Çeşitli patolojik durumlarda SOD'un, rezistans arterlerin endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında düzelmeye neden olduğu bilinmektedir (232; 233). Her ne kadar bu çalışmada sıçanların sistemik ve lokal oksidan durumları incelenmemişse de reaktif oksijen türevlerindeki artma ya da SOD düzeylerindeki azalmanın, rezistans arterlerin endotel bağımlı fonksiyonlarında yüksek visfatin düzeyleri ile oluşan bozulmaya katkıda bulunabileceği anlaşılmaktadır.

Dolaşımdaki visfatin konsantrasyonlarının sağlıklı kişilerde 15 ng/mL olduğu (226; 234) bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise sıçanlarda plazma visfatin düzeyleri  $8.75 \pm 0.81$  ng/mL olarak bulunmuştur. Diğer taraftan plazma visfatin düzeylerinin T2DM'li hastalarda 18 - 32 ng/mL ve tip 1 diyabetik hastalarda 35 ng/mL düzeylerine çıktığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte patolojik durumlarda plazma visfatin düzeylerine ilişkin çalışmaların sonuçları arasında genel olarak bir tutarsızlık söz konusudur; bazı çalışmalarda yukarıda belirtilen klinik durumlarda visfatin düzeylerinin sağlıklı gönüllülerden farklı olmadığı ya da daha düşük olduğu ileri sürülmüştür (8). Yakın zaman önce yapılan bir çalışmada ise diyabetik olmayan, prediyabetik ve diyabetik hastalarda plazma visfatin düzeyleri sırasıyla  $17.4 \pm 8.7$ ,  $20.6 \pm 12.3$  ve  $20.6 \pm 12.3$  ng/mL olarak ölçülmüştür (235). Diğer taraftan deneysel hayvan modelleri ve insanlarda yapılan çalışmalarda visfatin'in aort ve koroner arter gibi damarların PVAT'ında bulunduğu, PVAT'ta subkutan adipoz dokuya göre 3.7, visceral adipoz dokuya göre ise 1.8 kat daha fazla düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir (11; 13). Dolayısıyla vasküler düz kas hücrelerinin gerek dolaşımdan gelen gerekse PVAT'tan salınan visfatin ile etkilenebileceği ve plazma visfatin düzeyleri ile PVAT düzeyleri arasında belirli bir ilişki olabileceği düşünülebilir. Bu görüşleri destekler şekilde bu çalışmada sıçanlarda doku proteinine oranlanan mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeyleri plazma visfatin düzeylerinden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $117.75 \pm 12.47$  ng/mg ve  $8.75 \pm 0.81$  ng/mL) (Şekil

4.10). Ayrıca doku proteinine oranlanan mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeyleri ile plazma visfatin düzeyleri arasında anlamlı bir pozitif korelasyon saptanmıştır ( $r= 0.485$ ,  $P= 0.035$ ). Doku proteinine oranlanan mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeyleri, vücut ağırlığına göre oranlanarak düzeltilindiğinde de plazma visfatin düzeyleri ile gözlenen pozitif korelasyonun sürdüğü saptanmıştır ( $r= 0.502$ ,  $P=0.034$ ) (Şekil 4.11). Dolayısıyla bu sonuçlar toplu olarak ele alındığında visfatin'in sıçanlarda gerek plazma düzeyleri gerekse mezenterik perivasküler yağ dokusu düzeyleri ile mezenterik rezistans arterlerin endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını etkileme potansiyeline sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Bugüne kadar visfatin'in bir proinflamatuvar adipositokin olduğu ve endotel hücre ve vasküler düz kas hücre inflamasyonu (230; 236) vasküler düz kas proliferasyonu (11) ve matris metalloproteinazların aktivasyonu (14) gibi vasküler zedelenme ve endotel fonksiyon bozuklukları ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Diğer taraftan, bu görüşlere zıt olarak yüksek visfatin konsantrasyonlarının (100-250 ng/mL) monositlerde IL-1RA ve IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (203). Dolayısıyla visfatin'in inflamasyon üzerindeki etkileri halen tartışma konusudur. Bununla birlikte bu çalışmada mezenterik perivasküler adipoz doku visfatin düzeyleri ile plazma visfatin düzeyleri arasında anlamlı bir pozitif korelasyon olduğu ve visfatin'in izole sıçan mezenterik rezistans arterlerinde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını olasılıkla NO inhibisyonu ve serbest oksijen radikalleri aracılığı ile inhibe ettiği saptanmıştır. NO'in endotelial inflamasyonu ve trombozu inhibe eden bir vazoprotektif ajan olduğu (237; 238) düşünüldüğünde, çalışmamızın sonuçları çeşitli patolojik durumlarda oluşabilecek yüksek lokal ya da sistemik visfatin düzeylerinin, en azından küçük rezistans arterler düzeyinde endotel fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkileri ile bu patolojilere katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.



## SONUÇLAR

Bu çalışma ile visfatin'in sıçan izole mezenterik rezistans arterlerinde fonksiyonel etkileri ve bu etkilerde rol oynayan olası mekanizma/lar araştırılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

- Ön-deneylerde çözücülerinin damar yanıtlarında kendi başlarına uygulandıklarında anlamlı bir değişiklik oluşturmadıkları saptandı. Ayrıca visfatin ile deneylerde kullanılan diğer kimyasalların damarların bazal tonusu üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadıkları belirlendi.
- Ayrı ayrı 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübe edilen endoteli sağlam mezenterik arter halkalarında kümülatif konsantrasyonda ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) uygulanan NA ile oluşturulan kasılma yanıtları visfatin inkübasyonu öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermedi.
- Ayrı ayrı 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi ve sonrasında endoteli zedeli mezenterik arter halkalarında ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) gevşeme yanıtı oluşturmadı.
- Ayrı ayrı 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübe edilen endoteli sağlam sıçan mezenterik arter halkalarında ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları, 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin inkübasyonları ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı. ACh'ya maksimal gevşeme yanıtlarında visfatin ile oluşan inhibisyonun konsantrasyon-bağımlı olduğu ve özellikle yüksek konsantrasyonlarda inhibisyona ACh'ya damar duyarlığında bir artmanın eşlik ettiği gözlemlendi. Diğer taraftan PHE ( $10^{-6}$  M) ile ön kasılma oluşturulan sıçan mezenterik arter halkalarında endotel-bağımsız gevşetici ajan olan SNP'ye ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) gevşeme yanıtları 1, 5, 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin ile 30 dk. inkübasyon öncesi ve sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermedi.
- Damar preparatlarının ACh'e ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında 25, 50 ve 100 ng/mL visfatin inkübasyonları ile gözlenen inhibisyon, Nampt inhibitörü FK866 (10  $\mu$ M) ile 20 dk. inkübasyon sonrasında büyük ölçüde geriye döndü.
- Endoteli sağlam sıçan izole mezenterik arterlerinde ACh ile oluşan gevşeme yanıtları İNDO inkübasyonu sonrası anlamlı olarak değişmedi. Diğer taraftan damar preparatlarının NOS blokörü L-NAME ile

inkübasyonu ACh'ya gevşeme yanıtlarında anlamlı bir azalmaya (yaklaşık %70) neden oldu. Sıçan mezenterik vasküler yatak izole rezistans arterlerinin ACh'ya gevşeme yanıtlarında visfatin (100 ng/mL) ile oluşan azalmanın ACh'ya gevşeme yanıtının L-NAME'ye duyarlı olan komponentinin blokajı ile benzer olduğu saptandı.

- İzole arter preparatlarının SOD (100 U/ml) ile 30 dk. inkübasyonu ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-5}$  M) ile oluşan endotel bağımlı gevşeme yanıtları üzerinde 15 ve 35 ng/mL visfatin'in oluşturduğu azalmayı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde geri döndürdü.
- Sıçanların plazma ve mezenterik perivasküler yağ dokusundaki ortalama visfatin düzeyleri sırasıyla  $8.75 \pm 0.81$  ng/mL (n=19) ve  $117.75 \pm 12.47$  ng/mg (n=19) olarak bulundu. Sıçan mezenterik perivasküler yağ dokusundaki visfatin düzeyleri, plazma visfatin düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti.
- Plazma ve mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeyleri arasında anlamlı bir pozitif korelasyon saptandı. Doku proteinine oranlanan mezenterik perivasküler yağ dokusu visfatin düzeylerinin, vücut ağırlığına göre oranlanarak düzeltilmesi durumunda da plazma visfatin düzeyleri ile anlamlı bir pozitif korelasyonun olduğu gözlemlendi.

Böylelikle, visfatin'in izole sıçan mezenterik rezistans arterlerinde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarını olasılıkla NO inhibisyonu ve serbest oksijen radikalleri aracılığı ile inhibe ettiği, visfatin düzeylerindeki lokal ve/veya sistemik artışların endotel fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkileri ile çeşitli patolojik durumlara katkıda bulunabileceği sonucuna varıldı.

## KAYNAKLAR

1. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. 2005. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 288:H2031-41
2. Guzik TJ, Mangalat D, Korbut R. 2006. Adipocytokines - novel link between inflammation and vascular function? *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society* 57:505-28
3. Karastergiou K, Mohamed-Ali V. 2010. The autocrine and paracrine roles of adipokines. *Molecular and cellular endocrinology* 318:69-78
4. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. 1994. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Molecular and cellular biology* 14:1431-7
5. Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, Gigot D, Urbain J, et al. 2002. Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *European journal of immunology* 32:3225-34
6. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, et al. 2005. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 307:426-30
7. Sandeep S, Velmurugan K, Deepa R, Mohan V. 2007. Serum visfatin in relation to visceral fat, obesity, and type 2 diabetes mellitus in Asian Indians. *Metabolism: clinical and experimental* 56:565-70
8. Filippatos TD, Randeve HS, Derdemezis CS, Elisaf MS, Mikhailidis DP. 2010. Visfatin/PBEF and atherosclerosis-related diseases. *Current vascular pharmacology* 8:12-28
9. Berndt J, Kloting N, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, et al. 2005. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* 54:2911-6
10. Stephens JM, Vidal-Puig AJ. 2006. An update on visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor, an ubiquitously expressed, illusive cytokine that is regulated in obesity. *Current opinion in lipidology* 17:128-31

11. Wang P, Xu TY, Guan YF, Su DF, Fan GR, Miao CY. 2009. Perivascular adipose tissue-derived visfatin is a vascular smooth muscle cell growth factor: role of nicotinamide mononucleotide. *Cardiovascular research* 81:370-80
12. Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, Oie E, Dahl A, et al. 2007. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation* 115:972-80
13. Spiroglou SG, Kostopoulos CG, Varakis JN, Papadaki HH. 2010. Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: differential expression and relation to atherosclerosis. *Journal of atherosclerosis and thrombosis* 17:115-30
14. Adya R, Tan BK, Punn A, Chen J, Randeve HS. 2008. Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis. *Cardiovascular research* 78:356-65
15. Kim SR, Bae SK, Choi KS, Park SY, Jun HO, et al. 2007. Visfatin promotes angiogenesis by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2. *Biochemical and biophysical research communications* 357:150-6
16. Lovren F, Pan Y, Shukla PC, Quan A, Teoh H, et al. 2009. Visfatin activates eNOS via Akt and MAP kinases and improves endothelial cell function and angiogenesis in vitro and in vivo: translational implications for atherosclerosis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 296:E1440-9
17. Yamawaki H, Hara N, Okada M, Hara Y. 2009. Visfatin causes endothelium-dependent relaxation in isolated blood vessels. *Biochemical and biophysical research communications* 383:503-8
18. Takebayashi K, Suetsugu M, Wakabayashi S, Aso Y, Inukai T. 2007. Association between plasma visfatin and vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: clinical and experimental* 56:451-8
19. Yilmaz MI, Saglam M, Carrero JJ, Qureshi AR, Caglar K, et al. 2008. Serum visfatin concentration and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 23:959-65

20. Yilmaz MI, Saglam M, Carrero JJ, Qureshi AR, Caglar K, et al. 2009. Normalization of endothelial dysfunction following renal transplantation is accompanied by a reduction of circulating visfatin/NAMPT. A novel marker of endothelial damage? *Clinical transplantation* 23:241-8
21. Vallejo S, Romacho T, Angulo J, Villalobos LA, Cercas E, et al. 2011. Visfatin impairs endothelium-dependent relaxation in rat and human mesenteric microvessels through nicotinamide phosphoribosyltransferase activity. *PLoS one* 6:e27299
22. Peiro C, Romacho T, Carraro R, Sanchez-Ferrer CF. 2010. Visfatin/PBEF/Nampt: A New Cardiovascular Target? *Frontiers in pharmacology* 1:135
23. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. 2013. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN inflammation* 2013:139239
24. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. 2001. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 280:E827-47
25. Stepan CM, Lazar MA. 2002. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 13:18-23
26. Montague CT, O'Rahilly S. 2000. The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes* 49:883-8
27. Lehr S, Hartwig S, Sell H. 2012. Adipokines: a treasure trove for the discovery of biomarkers for metabolic disorders. *Proteomics. Clinical applications* 6:91-101
28. Gimble JM. 2003. Adipose tissue-derived therapeutics. *Expert opinion on biological therapy* 3:705-13
29. Yamawaki H. 2011. Vascular effects of novel adipocytokines: focus on vascular contractility and inflammatory responses. *Biological & pharmaceutical bulletin* 34:307-10
30. Wiecek A, Kokot F, Chudek J, Adamczak M. 2002. The adipose tissue--a novel endocrine organ of interest to the nephrologist. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 17:191-5

31. Kloting N, Bluher M. 2014. Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 15:277-87
32. Tchernof A, Despres JP. 2013. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiological reviews* 93:359-404
33. Cinti S. 2001. The adipose organ: endocrine aspects and insights from transgenic models. *Eating and weight disorders : EWD* 6:4-8
34. Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B. 2007. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 293:E444-52
35. Warden NA, Warden CH. 2001. Biological influences on obesity. *Pediatric clinics of North America* 48:879-91
36. Frontini A, Cinti S. 2010. Distribution and development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ. *Cell metabolism* 11:253-6
37. Sakurai T, Ogasawara J, Kizaki T, Sato S, Ishibashi Y, et al. 2013. The effects of exercise training on obesity-induced dysregulated expression of adipokines in white adipose tissue. *International journal of endocrinology* 2013:801743
38. Dunmore SJ, Brown JE. 2013. The role of adipokines in beta-cell failure of type 2 diabetes. *The Journal of endocrinology* 216:T37-45
39. Bluher M. 2009. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association* 117:241-50
40. Bluher M. 2012. Vaspin in obesity and diabetes: pathophysiological and clinical significance. *Endocrine* 41:176-82
41. Catalan V, Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, Salvador J, Fruhbeck G. 2009. Adipokines in the treatment of diabetes mellitus and obesity. *Expert opinion on pharmacotherapy* 10:239-54
42. Kusminski CM, Scherer PE. 2009. The road from discovery to clinic: adiponectin as a biomarker of metabolic status. *Clinical pharmacology and therapeutics* 86:592-5
43. Aust G, Richter O, Rohm S, Kerner C, Hauss J, et al. 2009. Vaspin serum concentrations in patients with carotid stenosis. *Atherosclerosis* 204:262-6

44. Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O. 2007. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nature clinical practice. Rheumatology* 3:716-24
45. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372:425-32
46. Auwerx J, Staels B. 1998. Leptin. *Lancet* 351:737-42
47. Peelman F, Waelput W, Iserentant H, Lavens D, Eyckerman S, et al. 2004. Leptin: linking adipocyte metabolism with cardiovascular and autoimmune diseases. *Progress in lipid research* 43:283-301
48. Ahima RS, Flier JS. 2000. Leptin. *Annual review of physiology* 62:413-37
49. Zha JM, Di WJ, Zhu T, Xie Y, Yu J, et al. 2009. Comparison of gene transcription between subcutaneous and visceral adipose tissue in Chinese adults. *Endocrine journal* 56:935-44
50. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, et al. 1998. The stomach is a source of leptin. *Nature* 394:790-3
51. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. 2002. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity* 26:1407-33
52. Bjorbaek C, Kahn BB. 2004. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent progress in hormone research* 59:305-31
53. Donato J, Jr., Cravo RM, Frazao R, Elias CF. 2011. Hypothalamic sites of leptin action linking metabolism and reproduction. *Neuroendocrinology* 93:9-18
54. Morioka T, Asilmaz E, Hu J, Dishinger JF, Kurpad AJ, et al. 2007. Disruption of leptin receptor expression in the pancreas directly affects beta cell growth and function in mice. *The Journal of clinical investigation* 117:2860-8
55. Bornstein SR, Abu-Asab M, Glasow A, Path G, Hauner H, et al. 2000. Immunohistochemical and ultrastructural localization of leptin and leptin receptor in human white adipose tissue and differentiating human adipose cells in primary culture. *Diabetes* 49:532-8

56. Berglund ED, Vianna CR, Donato J, Jr., Kim MH, Chuang JC, et al. 2012. Direct leptin action on POMC neurons regulates glucose homeostasis and hepatic insulin sensitivity in mice. *The Journal of clinical investigation* 122:1000-9
57. Vong L, Ye C, Yang Z, Choi B, Chua S, Jr., Lowell BB. 2011. Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons. *Neuron* 71:142-54
58. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. 1998. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 394:897-901
59. Savage DB, O'Rahilly S. 2002. Leptin: a novel therapeutic role in lipodystrophy. *The Journal of clinical investigation* 109:1285-6
60. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, et al. 1995. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269:543-6
61. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, et al. 2002. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *The Journal of clinical investigation* 110:1093-103
62. Van Heek M, Compton DS, France CF, Tedesco RP, Fawzi AB, et al. 1997. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *The Journal of clinical investigation* 99:385-90
63. Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, Dixon RM, Kushner R, et al. 1999. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *Jama* 282:1568-75
64. Hukshorn CJ, Saris WH, Westerterp-Plantenga MS, Farid AR, Smith FJ, Campfield LA. 2000. Weekly subcutaneous pegylated recombinant native human leptin (PEG-OB) administration in obese men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 85:4003-9
65. Foo JP, Mantzoros CS. 2012. Leptin in congenital or HIV-associated lipodystrophy and metabolic syndrome: a need for more mechanistic studies and large, randomized, placebo-controlled trials. *Metabolism: clinical and experimental* 61:1331-6
66. Chou K, Perry CM. 2013. Metreleptin: first global approval. *Drugs* 73:989-97
67. Hotamisligil GS, Spiegelman BM. 1994. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 43:1271-8



68. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. 1995. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation* 95:2409-15
69. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. 1993. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259:87-91
70. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. 1997. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function. *Nature* 389:610-4
71. Bluher M. 2014. Adipokines - removing road blocks to obesity and diabetes therapy. *Molecular metabolism* 3:230-40
72. Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, et al. 2003. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 37:343-50
73. Liang H, Yin B, Zhang H, Zhang S, Zeng Q, et al. 2008. Blockade of tumor necrosis factor (TNF) receptor type 1-mediated TNF- $\alpha$  signaling protected Wistar rats from diet-induced obesity and insulin resistance. *Endocrinology* 149:2943-51
74. Lopez-Soriano J, Lopez-Soriano FJ, Bagby GJ, Williamson DH, Argiles JM. 1997. Anti-TNF treatment does not reverse the abnormalities in lipid metabolism of the obese Zucker rat. *The American journal of physiology* 272:E656-60
75. Yazdani-Biuki B, Stelzl H, Brezinschek HP, Hermann J, Mueller T, et al. 2004. Improvement of insulin sensitivity in insulin resistant subjects during prolonged treatment with the anti-TNF- $\alpha$  antibody infliximab. *European journal of clinical investigation* 34:641-2
76. Stanley TL, Zanni MV, Johnsen S, Rasheed S, Makimura H, et al. 2011. TNF- $\alpha$  antagonism with etanercept decreases glucose and increases the proportion of high molecular weight adiponectin in obese subjects with features of the metabolic syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 96:E146-50
77. Wascher TC, Lindeman JH, Sourij H, Kooistra T, Pacini G, Roden M. 2011. Chronic TNF- $\alpha$  neutralization does not improve insulin resistance or endothelial function in "healthy" men with metabolic syndrome. *Mol Med* 17:189-93

78. Dominguez H, Storgaard H, Rask-Madsen C, Steffen Hermann T, Ihlemann N, et al. 2005. Metabolic and vascular effects of tumor necrosis factor-alpha blockade with etanercept in obese patients with type 2 diabetes. *Journal of vascular research* 42:517-25
79. Di Rocco P, Manco M, Rosa G, Greco AV, Mingrone G. 2004. Lowered tumor necrosis factor receptors, but not increased insulin sensitivity, with infliximab. *Obesity research* 12:734-9
80. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. 1995. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of biological chemistry* 270:26746-9
81. Steffes MW, Gross MD, Schreiner PJ, Yu X, Hilner JE, et al. 2004. Serum adiponectin in young adults--interactions with central adiposity, circulating levels of glucose, and insulin resistance: the CARDIA study. *Annals of epidemiology* 14:492-8
82. Turer AT, Scherer PE. 2012. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 55:2319-26
83. Okada-Iwabu M, Yamauchi T, Iwabu M, Honma T, Hamagami K, et al. 2013. A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. *Nature* 503:493-9
84. Raji A, Gerhard-Herman MD, Warren M, Silverman SG, Raptopoulos V, et al. 2004. Insulin resistance and vascular dysfunction in nondiabetic Asian Indians. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 89:3965-72
85. Masaki T, Chiba S, Tatsukawa H, Yasuda T, Noguchi H, et al. 2004. Adiponectin protects LPS-induced liver injury through modulation of TNF-alpha in KK-Ay obese mice. *Hepatology* 40:177-84
86. Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Staels B. 2004. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARalpha, PPARgamma, and LXR. *Biochemical and biophysical research communications* 314:151-8
87. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, et al. 2006. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *European cytokine network* 17:4-12
88. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, et al. 1993. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 136:355-60

89. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, et al. 1998. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and biophysical research communications* 251:471-6
90. Kleinz MJ, Davenport AP. 2005. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & therapeutics* 107:198-211
91. Castan-Laurell I, Dray C, Attane C, Duparc T, Knauf C, Valet P. 2011. Apelin, diabetes, and obesity. *Endocrine* 40:1-9
92. Beltowski J. 2006. Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity? *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 12:RA112-9
93. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, et al. 2000. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *Journal of neurochemistry* 74:34-41
94. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, et al. 2003. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of neurochemistry* 84:1162-72
95. Kleinz MJ, Davenport AP. 2004. Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells. *Regulatory peptides* 118:119-25
96. Krist J, Wieder K, Kloting N, Oberbach A, Kralisch S, et al. 2013. Effects of weight loss and exercise on apelin serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Obesity facts* 6:57-69
97. Principe A, Melgar-Lesmes P, Fernandez-Varo G, del Arbol LR, Ros J, et al. 2008. The hepatic apelin system: a new therapeutic target for liver disease. *Hepatology* 48:1193-201
98. Dray C, Knauf C, Daviaud D, Waget A, Boucher J, et al. 2008. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell metabolism* 8:437-45
99. Katugampola S, Davenport A. 2003. Emerging roles for orphan G-protein-coupled receptors in the cardiovascular system. *Trends in pharmacological sciences* 24:30-5
100. Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, et al. 2001. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of neurochemistry* 77:1085-96

101. Tang SY, Xie H, Yuan LQ, Luo XH, Huang J, et al. 2007. Apelin stimulates proliferation and suppresses apoptosis of mouse osteoblastic cell line MC3T3-E1 via JNK and PI3-K/Akt signaling pathways. *Peptides* 28:708-18
102. Cayabyab M, Hinuma S, Farzan M, Choe H, Fukusumi S, et al. 2000. Apelin, the natural ligand of the orphan seven-transmembrane receptor APJ, inhibits human immunodeficiency virus type 1 entry. *Journal of virology* 74:11972-6
103. Malyszko J, Malyszko JS, Kozminski P, Mysliwiec M. 2006. Apelin and cardiac function in hemodialyzed patients: possible relations? *American journal of nephrology* 26:121-6
104. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, et al. 2000. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *The Journal of biological chemistry* 275:21061-7
105. Malamitsi-Puchner A, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, Briana DD. 2007. Circulating apelin concentrations in mother/infant pairs at term. *Acta Paediatr* 96:1751-4
106. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, et al. 2005. Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:10610-5
107. Kloting N, Kovacs P, Kern M, Heiker JT, Fasshauer M, et al. 2011. Central vaspin administration acutely reduces food intake and has sustained blood glucose-lowering effects. *Diabetologia* 54:1819-23
108. Kloting N, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, et al. 2006. Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochemical and biophysical research communications* 339:430-6
109. Heiker JT, Kloting N, Kovacs P, Kuettner EB, Strater N, et al. 2013. Vaspin inhibits kallikrein 7 by serpin mechanism. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 70:2569-83
110. Nakatsuka A, Wada J, Iseda I, Teshigawara S, Higashio K, et al. 2012. Vaspin is an adipokine ameliorating ER stress in obesity as a ligand for cell-surface GRP78/MTJ-1 complex. *Diabetes* 61:2823-32
111. Kobat MA, Celik A, Balin M, Altas Y, Baydas A, et al. 2012. The investigation of serum vaspin level in atherosclerotic coronary artery disease. *Journal of clinical medicine research* 4:110-3

112. Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. 2007. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell* 131:242-56
113. Townsend KL, Suzuki R, Huang TL, Jing E, Schulz TJ, et al. 2012. Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) reverses obesity and regulates appetite through a central mTOR pathway. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 26:2187-96
114. Chen TL, Shen WJ, Kraemer FB. 2001. Human BMP-7/OP-1 induces the growth and differentiation of adipocytes and osteoblasts in bone marrow stromal cell cultures. *Journal of cellular biochemistry* 82:187-99
115. Tseng YH, Kokkotou E, Schulz TJ, Huang TL, Winnay JN, et al. 2008. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature* 454:1000-4
116. Li T, Surendran K, Zawaideh MA, Mathew S, Hruska KA. 2004. Bone morphogenetic protein 7: a novel treatment for chronic renal and bone disease. *Current opinion in nephrology and hypertension* 13:417-22
117. Vaccaro AR, Whang PG, Patel T, Phillips FM, Anderson DG, et al. 2008. The safety and efficacy of OP-1 (rhBMP-7) as a replacement for iliac crest autograft for posterolateral lumbar arthrodesis: minimum 4-year follow-up of a pilot study. *The spine journal : official journal of the North American Spine Society* 8:457-65
118. Vaccaro AR, Lawrence JP, Patel T, Katz LD, Anderson DG, et al. 2008. The safety and efficacy of OP-1 (rhBMP-7) as a replacement for iliac crest autograft in posterolateral lumbar arthrodesis: a long-term (>4 years) pivotal study. *Spine* 33:2850-62
119. Stengel A, Tache Y. 2011. Minireview: nesfatin-1--an emerging new player in the brain-gut, endocrine, and metabolic axis. *Endocrinology* 152:4033-8
120. Gonzalez R, Reingold BK, Gao X, Gaidhu MP, Tsushima RG, Unniappan S. 2011. Nesfatin-1 exerts a direct, glucose-dependent insulinotropic action on mouse islet beta- and MIN6 cells. *The Journal of endocrinology* 208:R9-R16
121. Su Y, Zhang J, Tang Y, Bi F, Liu JN. 2010. The novel function of nesfatin-1: anti-hyperglycemia. *Biochemical and biophysical research communications* 391:1039-42

122. Konczol K, Pinter O, Ferenczi S, Varga J, Kovacs K, et al. 2012. Nesfatin-1 exerts long-term effect on food intake and body temperature. *Int J Obes (Lond)* 36:1514-21
123. Price CJ, Samson WK, Ferguson AV. 2008. Nesfatin-1 inhibits NPY neurons in the arcuate nucleus. *Brain research* 1230:99-106
124. Sakurai T. 2012. [Hypothalamic neuropeptides implicated in the regulation of sleep/wakefulness states]. *Brain and nerve = Shinkei kenkyu no shinpo* 64:629-37
125. Moreau JM, Ciriello J. 2013. Nesfatin-1 induces Fos expression and elicits dipsogenic responses in subfornical organ. *Behavioural brain research* 250:343-50
126. Gonzalez R, Mohan H, Unniappan S. 2012. Nucleobindins: bioactive precursor proteins encoding putative endocrine factors? *General and comparative endocrinology* 176:341-6
127. Feijoo-Bandin S, Rodriguez-Penas D, Garcia-Rua V, Mosquera-Leal A, Otero MF, et al. 2013. Nesfatin-1 in human and murine cardiomyocytes: synthesis, secretion, and mobilization of GLUT-4. *Endocrinology* 154:4757-67
128. Ari M, Ozturk OH, Bez Y, Oktar S, Erduran D. 2011. High plasma nesfatin-1 level in patients with major depressive disorder. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 35:497-500
129. Bloem B, Xu L, Morava E, Faludi G, Palkovits M, et al. 2012. Sex-specific differences in the dynamics of cocaine- and amphetamine-regulated transcript and nesfatin-1 expressions in the midbrain of depressed suicide victims vs. controls. *Neuropharmacology* 62:297-303
130. Hofmann T, Stengel A, Ahnis A, Busse P, Elbelt U, Klapp BF. 2013. NUCB2/nesfatin-1 is associated with elevated scores of anxiety in female obese patients. *Psychoneuroendocrinology* 38:2502-10
131. Yosten GL, Samson WK. 2009. Nesfatin-1 exerts cardiovascular actions in brain: possible interaction with the central melanocortin system. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 297:R330-6
132. Lamers D, Famulla S, Wronkowitz N, Hartwig S, Lehr S, et al. 2011. Dipeptidyl peptidase 4 is a novel adipokine potentially linking obesity to the metabolic syndrome. *Diabetes* 60:1917-25

133. Kazafeos K. 2011. Incretin effect: GLP-1, GIP, DPP4. *Diabetes research and clinical practice* 93 Suppl 1:S32-6
134. Sell H, Bluher M, Kloting N, Schlich R, Willems M, et al. 2013. Adipose dipeptidyl peptidase-4 and obesity: correlation with insulin resistance and depot-specific release from adipose tissue in vivo and in vitro. *Diabetes care* 36:4083-90
135. Nauck MA. 2011. Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus: properties, functions, and clinical implications. *The American journal of medicine* 124:S3-18
136. Lotfy M, Singh J, Kalasz H, Tekes K, Adeghate E. 2011. Medicinal Chemistry and Applications of Incretins and DPP-4 Inhibitors in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *The open medicinal chemistry journal* 5:82-92
137. Bird S, Wang T, Zou J, Cunningham C, Secombes CJ. 2002. The first cytokine sequence within cartilaginous fish: IL-1 beta in the small spotted catshark (*Scyliorhinus canicula*). *J Immunol* 168:3329-40
138. Sopasakis VR, Nagaev I, Smith U. 2005. Cytokine release from adipose tissue of nonobese individuals. *Int J Obes (Lond)* 29:1144-7
139. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Volund A, Ehses JA, et al. 2007. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *The New England journal of medicine* 356:1517-26
140. Ornitz DM, Itoh N. 2001. Fibroblast growth factors. *Genome biology* 2:REVIEWS3005
141. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry* 18:499-502
142. Kharitononkov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, et al. 2005. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *The Journal of clinical investigation* 115:1627-35
143. Gaich G, Chien JY, Fu H, Glass LC, Deeg MA, et al. 2013. The effects of LY2405319, an FGF21 analog, in obese human subjects with type 2 diabetes. *Cell metabolism* 18:333-40
144. Kurosu H, Choi M, Ogawa Y, Dickson AS, Goetz R, et al. 2007. Tissue-specific expression of betaKlotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *The Journal of biological chemistry* 282:26687-95

145. Mraz M, Bartlova M, Lacinova Z, Michalsky D, Kasalicky M, et al. 2009. Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity. *Clinical endocrinology* 71:369-75
146. Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N. 2000. Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochimica et biophysica acta* 1492:203-6
147. Ito S, Kinoshita S, Shiraishi N, Nakagawa S, Sekine S, et al. 2000. Molecular cloning and expression analyses of mouse betaklotho, which encodes a novel Klotho family protein. *Mechanisms of development* 98:115-9
148. Kharitonov A, Wroblewski VJ, Koester A, Chen YF, Clutinger CK, et al. 2007. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology* 148:774-81
149. Wente W, Efanov AM, Brenner M, Kharitonov A, Koster A, et al. 2006. Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes* 55:2470-8
150. Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, et al. 2007. Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell metabolism* 5:415-25
151. Maebuchi M, Machidori M, Urade R, Ogawa T, Moriyama T. 2003. Low resistin levels in adipose tissues and serum in high-fat fed mice and genetically obese mice: development of an ELISA system for quantification of resistin. *Archives of biochemistry and biophysics* 416:164-70
152. Bergmann K, Sypniewska G. 2013. Diabetes as a complication of adipose tissue dysfunction. Is there a role for potential new biomarkers? *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC* 51:177-85
153. Wang P, Vanhoutte PM, Miao CY. 2012. Visfatin and cardio-cerebrovascular disease. *Journal of cardiovascular pharmacology* 59:1-9
154. Revollo JR, Grimm AA, Imai S. 2007. The regulation of nicotinamide adenine dinucleotide biosynthesis by Nampt/PBEF/visfatin in mammals. *Current opinion in gastroenterology* 23:164-70
155. Flier JS. 2007. *Biology of Obesity*.



156. Wang T, Zhang X, Bheda P, Revollo JR, Imai S, Wolberger C. 2006. Structure of Nampt/PBEF/visfatin, a mammalian NAD<sup>+</sup> biosynthetic enzyme. *Nature structural & molecular biology* 13:661-2
157. Kim MK, Lee JH, Kim H, Park SJ, Kim SH, et al. 2006. Crystal structure of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1/nicotinamide phosphoribosyltransferase, free and in complex with the anti-cancer agent FK-866. *Journal of molecular biology* 362:66-77
158. Jia SH, Li Y, Parodo J, Kapus A, Fan L, et al. 2004. Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *The Journal of clinical investigation* 113:1318-27
159. Adeghate E. 2008. *Visfatin: structure, function and relation to diabetes mellitus and other dysfunctions*. 1851-62 pp.
160. Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, et al. 2006. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 49:744-7
161. Garten A, Petzold S, Barnikol-Oettler A, Korner A, Thasler WE, et al. 2010. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT/PBEF/visfatin) is constitutively released from human hepatocytes. *Biochemical and biophysical research communications* 391:376-81
162. Costford SR, Bajpeyi S, Pasarica M, Albarado DC, Thomas SC, et al. 2010. Skeletal muscle NAMPT is induced by exercise in humans. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 298:E117-26
163. Sonoli SS, Shivprasad S, Prasad CV, Patil AB, Desai PB, Somannavar MS. 2011. Visfatin--a review. *European review for medical and pharmacological sciences* 15:9-14
164. Kitani T, Okuno S, Fujisawa H. 2003. Growth phase-dependent changes in the subcellular localization of pre-B-cell colony-enhancing factor. *FEBS letters* 544:74-8
165. Ognjanovic S, Bao S, Yamamoto SY, Garibay-Tupas J, Samal B, Bryant-Greenwood GD. 2001. Genomic organization of the gene coding for human pre-B-cell colony enhancing factor and expression in human fetal membranes. *Journal of molecular endocrinology* 26:107-17

166. Mayi TH, Duhem C, Copin C, Bouhleb MA, Rigamonti E, et al. 2010. Visfatin is induced by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human macrophages. *The FEBS journal* 277:3308-20
167. Mayi TH, Rigamonti E, Pattou F, Staels B, Chinetti-Gbaguidi G. 2011. Liver X Receptor (LXR) activation negatively regulates visfatin expression in macrophages. *Biochemical and biophysical research communications* 404:458-62
168. Stastny J, Bienertova-Vasku J, Vasku A. 2012. Visfatin and its role in obesity development. *Diabetes & metabolic syndrome* 6:120-4
169. van der Veer E, Nong Z, O'Neil C, Urquhart B, Freeman D, Pickering JG. 2005. Pre-B-cell colony-enhancing factor regulates NAD<sup>+</sup>-dependent protein deacetylase activity and promotes vascular smooth muscle cell maturation. *Circulation research* 97:25-34
170. Sethi JK, Vidal-Puig A. 2005. Visfatin: the missing link between intra-abdominal obesity and diabetes? *Trends in molecular medicine* 11:344-7
171. Jin H, Jiang B, Tang J, Lu W, Wang W, et al. 2008. Serum visfatin concentrations in obese adolescents and its correlation with age and high-density lipoprotein cholesterol. *Diabetes research and clinical practice* 79:412-8
172. Wang P, van Greevenbroek MM, Bouwman FG, Brouwers MC, van der Kallen CJ, et al. 2007. The circulating PBEF/NAMPT/visfatin level is associated with a beneficial blood lipid profile. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 454:971-6
173. Filippatos TD, Derdemezis CS, Kiortsis DN, Tselepis AD, Elisaf MS. 2007. Increased plasma levels of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obese and overweight patients with metabolic syndrome. *Journal of endocrinological investigation* 30:323-6
174. Kolsgaard ML, Wangensteen T, Brunborg C, Joner G, Holven KB, et al. 2009. Elevated visfatin levels in overweight and obese children and adolescents with metabolic syndrome. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 69:858-64
175. Sun G, Bishop J, Khalili S, Vasdev S, Gill V, et al. 2007. Serum visfatin concentrations are positively correlated with serum triacylglycerols and down-regulated by overfeeding in healthy young men. *The American journal of clinical nutrition* 85:399-404
176. Smith J, Al-Amri M, Sniderman A, Cianflone K. 2006. Visfatin concentration in Asian Indians is correlated with high density

lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A1. *Clinical endocrinology* 65:667-72

177. Yoshino J, Mills KF, Yoon MJ, Imai S. 2011. Nicotinamide mononucleotide, a key NAD(+) intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice. *Cell metabolism* 14:528-36
178. Davutoglu M, Ozkaya M, Guler E, Garipardic M, GURSOY H, et al. 2009. Plasma visfatin concentrations in childhood obesity: relationships with insulin resistance and anthropometric indices. *Swiss medical weekly* 139:22-7
179. Haider DG, Holzer G, Schaller G, Weghuber D, Widhalm K, et al. 2006. The adipokine visfatin is markedly elevated in obese children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 43:548-9
180. Axelsson J, Witasp A, Carrero JJ, Qureshi AR, Suliman ME, et al. 2007. Circulating levels of visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor 1 in relation to genotype, GFR, body composition, and survival in patients with CKD. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 49:237-44
181. Song HK, Lee MH, Kim BK, Park YG, Ko GJ, et al. 2008. Visfatin: a new player in mesangial cell physiology and diabetic nephropathy. *American journal of physiology. Renal physiology* 295:F1485-94
182. Bi TQ, Che XM. 2010. Nampt/PBEF/visfatin and cancer. *Cancer biology & therapy* 10:119-25
183. Pilz S, Mangge H, Obermayer-Pietsch B, Marz W. 2007. Visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor: a protein with various suggested functions. *Journal of endocrinological investigation* 30:138-44
184. Bauer L, Venz S, Junker H, Brandt R, Radons J. 2009. Nicotinamide phosphoribosyltransferase and prostaglandin H2 synthase 2 are up-regulated in human pancreatic adenocarcinoma cells after stimulation with interleukin-1. *International journal of oncology* 35:97-107
185. Bae SK, Kim SR, Kim JG, Kim JY, Koo TH, et al. 2006. Hypoxic induction of human visfatin gene is directly mediated by hypoxia-inducible factor-1. *FEBS letters* 580:4105-13
186. Hsu CP, Oka S, Shao D, Hariharan N, Sadoshima J. 2009. Nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates cell survival through NAD+ synthesis in cardiac myocytes. *Circulation research* 105:481-91

187. Imai S. 2009. The NAD World: a new systemic regulatory network for metabolism and aging--Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance. *Cell biochemistry and biophysics* 53:65-74
188. Wang B, Hasan MK, Alvarado E, Yuan H, Wu H, Chen WY. 2011. NAMPT overexpression in prostate cancer and its contribution to tumor cell survival and stress response. *Oncogene* 30:907-21
189. Vaziri H, Dessain SK, Ng Eaton E, Imai SI, Frye RA, et al. 2001. hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell* 107:149-59
190. Patel ST, Mistry T, Brown JE, Digby JE, Adya R, et al. 2010. A novel role for the adipokine visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor 1 in prostate carcinogenesis. *Peptides* 31:51-7
191. Kim JG, Kim EO, Jeong BR, Min YJ, Park JW, et al. 2010. Visfatin stimulates proliferation of MCF-7 human breast cancer cells. *Molecules and cells* 30:341-5
192. Garten A, Petzold S, Korner A, Imai S, Kiess W. 2009. Nampt: linking NAD biology, metabolism and cancer. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 20:130-8
193. Ravaud A, Cerny T, Terret C, Wanders J, Bui BN, et al. 2005. Phase I study and pharmacokinetic of CHS-828, a guanidino-containing compound, administered orally as a single dose every 3 weeks in solid tumours: an ECSR/EORTC study. *Eur J Cancer* 41:702-7
194. Pogrebniak A, Schemainda I, Azzam K, Pelka-Fleischer R, Nussler V, Hasmann M. 2006. Chemopotentiating effects of a novel NAD biosynthesis inhibitor, FK866, in combination with antineoplastic agents. *European journal of medical research* 11:313-21
195. Ye SQ, Simon BA, Maloney JP, Zambelli-Weiner A, Gao L, et al. 2005. Pre-B-cell colony-enhancing factor as a potential novel biomarker in acute lung injury. *American journal of respiratory and critical care medicine* 171:361-70
196. Ye SQ, Zhang LQ, Adyshev D, Usatyuk PV, Garcia AN, et al. 2005. Pre-B-cell-colony-enhancing factor is critically involved in thrombin-induced lung endothelial cell barrier dysregulation. *Microvascular research* 70:142-51
197. Zhang LQ, Adyshev DM, Singleton P, Li H, Cepeda J, et al. 2008. Interactions between PBEF and oxidative stress proteins--a potential new mechanism underlying PBEF in the pathogenesis of acute lung injury. *FEBS letters* 582:1802-8

198. Hong SB, Huang Y, Moreno-Vinasco L, Sammani S, Moitra J, et al. 2008. Essential role of pre-B-cell colony enhancing factor in ventilator-induced lung injury. *American journal of respiratory and critical care medicine* 178:605-17
199. Li H, Liu P, Cepeda J, Fang D, Easley RB, et al. 2008. Augmentation of Pulmonary Epithelial Cell IL-8 Expression and Permeability by Pre-B-cell Colony Enhancing Factor. *J Inflamm (Lond)* 5:15
200. Muller K, Aichele S, Herkommer M, Bigalke B, Stellos K, et al. 2010. Impact of inflammatory markers on platelet inhibition and cardiovascular outcome including stent thrombosis in patients with symptomatic coronary artery disease. *Atherosclerosis* 213:256-62
201. Kato A, Odamaki M, Ishida J, Hishida A. 2009. Relationship between serum pre-B cell colony-enhancing factor/visfatin and atherosclerotic parameters in chronic hemodialysis patients. *American journal of nephrology* 29:31-5
202. Adya R, Tan BK, Chen J, Randeve HS. 2009. Pre-B cell colony enhancing factor (PBEF)/visfatin induces secretion of MCP-1 in human endothelial cells: role in visfatin-induced angiogenesis. *Atherosclerosis* 205:113-9
203. Moschen AR, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, et al. 2007. Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol* 178:1748-58
204. Busso N, Karababa M, Nobile M, Rolaz A, Van Gool F, et al. 2008. Pharmacological inhibition of nicotinamide phosphoribosyltransferase/visfatin enzymatic activity identifies a new inflammatory pathway linked to NAD. *PloS one* 3:e2267
205. Gosset M, Berenbaum F, Salvat C, Sautet A, Pigenet A, et al. 2008. Crucial role of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in matrix degradation and prostaglandin E2 synthesis in chondrocytes: possible influence on osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 58:1399-409
206. Nowell MA, Richards PJ, Fielding CA, Ognjanovic S, Topley N, et al. 2006. Regulation of pre-B cell colony-enhancing factor by STAT-3-dependent interleukin-6 trans-signaling: implications in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 54:2084-95
207. Brentano F, Schorr O, Ospelt C, Stanczyk J, Gay RE, et al. 2007. Pre-B cell colony-enhancing factor/visfatin, a new marker of inflammation

in rheumatoid arthritis with proinflammatory and matrix-degrading activities. *Arthritis and rheumatism* 56:2829-39

208. Otero M, Lago R, Gomez R, Lago F, Dieguez C, et al. 2006. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 65:1198-201
209. Kukla M, Mazur W, Buldak RJ, Zwirska-Korczala K. 2011. Potential role of leptin, adiponectin and three novel adipokines--visfatin, chemerin and vaspin--in chronic hepatitis. *Mol Med* 17:1397-410
210. Dogru T, Sonmez A, Tasci I, Bozoglu E, Yilmaz MI, et al. 2007. Plasma visfatin levels in patients with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Diabetes research and clinical practice* 76:24-9
211. Murphy KG, Bloom SR. 2006. Are all fats created equal? *Nature medicine* 12:32-3
212. Kadoglou NP, Tsanikidis H, Kapelouzou A, Vrabas I, Vitta I, et al. 2010. Effects of rosiglitazone and metformin treatment on apelin, visfatin, and ghrelin levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: clinical and experimental* 59:373-9
213. Lu LF, Yang SS, Wang CP, Hung WC, Yu TH, et al. 2009. Elevated visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor plasma concentration in ischemic stroke. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* 18:354-9
214. Zhang W, Xie Y, Wang T, Bi J, Li H, et al. 2010. Neuronal protective role of PBEF in a mouse model of cerebral ischemia. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 30:1962-71
215. Chan TF, Chen YL, Chen HH, Lee CH, Jong SB, Tsai EM. 2007. Increased plasma visfatin concentrations in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility* 88:401-5
216. Tan BK, Chen J, Digby JE, Keay SD, Kennedy CR, Randeva HS. 2006. Increased visfatin messenger ribonucleic acid and protein levels in adipose tissue and adipocytes in women with polycystic ovary syndrome: parallel increase in plasma visfatin. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91:5022-8
217. Ozkaya M, Cakal E, Ustun Y, Engin-Ustun Y. 2010. Effect of metformin on serum visfatin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility* 93:880-4

- 218.** Romacho T, Sanchez-Ferrer CF, Peiro C. 2013. Visfatin/Nampt: an adipokine with cardiovascular impact. *Mediators of inflammation* 2013:946427
- 219.** Moulton KS. 2006. Angiogenesis in atherosclerosis: gathering evidence beyond speculation. *Current opinion in lipidology* 17:548-55
- 220.** Xiao J, Xiao ZJ, Liu ZG, Gong HY, Yuan Q, et al. 2009. Involvement of dimethylarginine dimethylaminohydrolase-2 in visfatin-enhanced angiogenic function of endothelial cells. *Diabetes/metabolism research and reviews* 25:242-9
- 221.** Lee WJ, Wu CS, Lin H, Lee IT, Wu CM, et al. 2009. Visfatin-induced expression of inflammatory mediators in human endothelial cells through the NF-kappaB pathway. *Int J Obes (Lond)* 33:465-72
- 222.** Bae YH, Bae MK, Kim SR, Lee JH, Wee HJ, Bae SK. 2009. Upregulation of fibroblast growth factor-2 by visfatin that promotes endothelial angiogenesis. *Biochemical and biophysical research communications* 379:206-11
- 223.** Lim SY, Davidson SM, Paramanathan AJ, Smith CC, Yellon DM, Hausenloy DJ. 2008. The novel adipocytokine visfatin exerts direct cardioprotective effects. *Journal of cellular and molecular medicine* 12:1395-403
- 224.** Kim SR, Bae YH, Bae SK, Choi KS, Yoon KH, et al. 2008. Visfatin enhances ICAM-1 and VCAM-1 expression through ROS-dependent NF-kappaB activation in endothelial cells. *Biochimica et biophysica acta* 1783:886-95
- 225.** Korner A, Garten A, Bluher M, Tauscher R, Kratzsch J, Kiess W. 2007. Molecular characteristics of serum visfatin and differential detection by immunoassays. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 92:4783-91
- 226.** Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, et al. 2006. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91:295-9
- 227.** Mulvany MJ, Halpern W. 1977. Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circulation research* 41:19-26
- 228.** Mulvany MJ, Aalkjaer C. 1990. Structure and function of small arteries. *Physiological reviews* 70:921-61

- 229.** Clark SG, Fuchs LC. 1997. Role of nitric oxide and Ca<sup>++</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels in mediating heterogeneous microvascular responses to acetylcholine in different vascular beds. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 282:1473-9
- 230.** Romacho T, Azcutia V, Vazquez-Bella M, Matesanz N, Cercas E, et al. 2009. Extracellular PBEF/NAMPT/visfatin activates pro-inflammatory signalling in human vascular smooth muscle cells through nicotinamide phosphoribosyltransferase activity. *Diabetologia* 52:2455-63
- 231.** Revollo JR, Korner A, Mills KF, Satoh A, Wang T, et al. 2007. Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell metabolism* 6:363-75
- 232.** Rodriguez-Manas L, Angulo J, Peiro C, Llergo JL, Sanchez-Ferrer A, et al. 1998. Endothelial dysfunction and metabolic control in streptozotocin-induced diabetic rats. *British journal of pharmacology* 123:1495-502
- 233.** Diederich D, Skopec J, Diederich A, Dai FX. 1994. Endothelial dysfunction in mesenteric resistance arteries of diabetic rats: role of free radicals. *The American journal of physiology* 266:H1153-61
- 234.** Lopez-Bermejo A, Chico-Julia B, Fernandez-Balsells M, Recasens M, Esteve E, et al. 2006. Serum visfatin increases with progressive beta-cell deterioration. *Diabetes* 55:2871-5
- 235.** Goktas Z, Owens S, Boylan M, Syn D, Shen CL, et al. 2013. Associations between tissue visfatin/nicotinamide, phosphoribosyltransferase (Nampt), retinol binding protein-4, and vaspin concentrations and insulin resistance in morbidly obese subjects. *Mediators of inflammation* 2013:861496
- 236.** Liu SW, Qiao SB, Yuan JS, Liu DQ. 2009. Association of plasma visfatin levels with inflammation, atherosclerosis and acute coronary syndromes (ACS) in humans. *Clinical endocrinology* 71:202-7
- 237.** Forstermann U, Munzel T. 2006. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation* 113:1708-14
- 238.** Forstermann U. 2010. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 459:923-39



## ÖZGEÇMİŞ

Esra AKCABAĞ ÇIRA, 02.11.1986'da Karabük'te doğdu. İlk ve orta öğrenimini Çağlayan Ortaokulu'nda (1992-2000), lise öğrenimini Manavgat Süper Lisesi'nde (2000-2004) tamamladı. 2009 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. 2010 yılında Ege Üniversitesi Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Anabilim Dalında Tezsiz Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. 2012 yılında Novo Nordisk ilaç firmasında Site Koordinatör olarak çalışmaya başladı. 2012-2013 Eğitim Öğretim Yılı Güz Dönemi'nde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Eylül 2013 yılından beri Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.